Polymer-modifizierte Kieselgele zur Racemattrennung durch chemoselektive Affinitätschromatographie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Doris Oberkobusch
aus Duisburg

1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0119

Polymer-modifizierte Kieselgele zur Racemattrennung durch chemoselektive Affinitätschromatographie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Doris Oberkobusch

aus Duisburg

1984

Angefertigt mit Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

1. Berichterstatter : Prof. Dr. G. Wulff

2. Berichterstatter : Prof. Dr. H.-D. Martin

Tag der mündlichen Prüfung : 4.2.1985

Meinen Eltern

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor Dr. G. Wulff in der Zeit von Juni 1981 bis Juli 1984 im Institut für Organische Chemie II der Universität Düsseldorf angefertigt.

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. G. Wulff für die stete Unterstützung sowie für wertvolle Anregungen und Diskussionen im Verlauf dieser Arbeit.

Inhaltsübersicht

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Theoretischer Teil	11
1.	Grundlagen	11
2.	Erläuterung des Konzepts	14
3.	Untersuchungen zum Einfluß der Diffusion auf den Massentransfer	20
3.1	Herstellung organischer Polymerschichten auf Kieselgel	20
3.2	Untersuchung Polymer-modifizierter Kieselgele im Batchverfahren	39
3.3	Einsatz Polymer-modifizierter Kieselgele in der Hochdruckflüssigchromatographie	48
4.	Untersuchungen zum Einfluß der Haftgruppenzahl auf den Trennfaktor	61
4.1	Polymere mit der Aldehydfunktion als einziger Haftgruppe	62
4.2	Polymer-modifizierte Kieselgele mit 3 Haftgruppen	73
III.	Zusammenfassung	89
IV.	Experimenteller Teil	93
1.	Apparatives	93
2.	Lösungsmittel und Ausgangssubstanzen	94
3.	Herstellung der Monomeren	95
3.1	Darstellung der Matrizenmoleküle und ihrer optischen Antipoden	95

		Seite
3.2	Darstellung der Schiff'schen Basen	97
3.3	Darstellung der boronesterhaltigen Matrizenmonomere	101
4.	Herstellung eines geschützten Aldehyds zur Fixierung auf Kieselgel	104
4.1	Versuche zur Einführung der Trimethoxysilylfunktion in 2-(4-Bromphenyl)-1, 3-dioxolan 30 bzw. 2-(4-Chlorphenyl)-1, 3-dioxolan	104
4.2	Synthese von [4-(Dimethoxymethyl)-phenyl]-trimethoxysilan 37	106
5.	Herstellung von Kieselgelpolymeren durch Copolymerisation von 6 mit 3, 13, 14 oder 15a und 15b	109
5.1	Vorbehandlung des Kieselgels und Modifizierung mit 5	109
5.2	Verkappung der OH-Gruppen	109
5.3	Polymerisation	110
5.4	Abspaltung und Äquilibrierung der Kieselgelpolymere	111
5.4.1	Kieselgel mit 3 als Matrizenmonomer	111
5.4.2	Kieselgelpolymere mit 13, 14 oder 15 als Matrizenmonomer	114
6.	Hochdruckflüssigchromatographische Untersuchungen	118
7.	Kieselgelpolymere mit direkt gebundenem Matrizenmonomer	119
7.1	Fixierung von 5 und 37 auf Kieselgel	119

Seite

7.2 Freisetzung des Aldehyds 119

7.3 Umsetzung des aldehydgruppenhaltigen Kieselgels mit p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-bis-O-(p-vinylphenyl-boronyl)-α-D-mannosid 15a 120

7.4 Polymerisation und Polymeruntersuchungen 120

8. Polymere mit der Aldehydfunktion als einziger Haftgruppe 122

8.1 Polymerisationsverfahren 122

8.2 Polymeruntersuchungen 122

9. Bestimmung der inneren Oberfläche von Kieselgelen und Polymeren 124

V. Literaturverzeichnis 125

I. Einleitung

Der Begriff "Affinitätschromatographie" wurde erstmals von Anfinsen und Cuatrecasas[1] für ein Trennprinzip geprägt, das auf dem spezifischen Erkennungsvermögen biologischer Partner beruht.

Die spezifische Erkennung zwischen den Reaktionspartnern in biologischen Umsetzungen wird auf eine exakte Komplementarität der reagierenden Moleküle zurückgeführt. Die Geometrie der Reaktionspartner ist so abgestimmt, daß bei der Komplexbildung alle funktionellen Gruppen, die zur Haftung oder Umsetzung benötigt werden, eine optimale Anordnung zueinander einnehmen. Meist sind sowohl bei der Haftung als auch bei der Umsetzung mehrere Gruppen oder Molekülteile kooperativ wirksam.

Derartige spezifische Wechselwirkungen bestehen z. B. zwischen den folgenden biologischen Partnern:

Antigen	-	Antikörper
Enzym	-	Substrat, Cofaktor, Inhibitor
Rezeptor	-	Hormon
Carrier	-	Vitamin, Hormon, aktiver Faktor
DNA oder RNA	-	komplementäre DNA oder RNA
Lectin	-	Polysaccharid

Die Wechselwirkungen sind nicht in allen Fällen individualspezifisch. Manche Moleküle des lebenden Organismus besitzen Affinität zu einer ganzen Gruppe von Komplementärpartnern, z. B. das Coenzym NAD^+ zu vielen Dehydrogenasen oder das Lectin Concanavalin A zu allen Verbindungen, die einen α-D-Arabinosid-, α-D-Mannosid- oder α-D-Glucosidrest enthalten.

Mit Hilfe der Affinitätschromatographie ist es möglich, aus einem komplexen Gemisch, wie es z. B. im Blut vorliegt, selektiv einzelne Komponenten abzutrennen, selbst wenn diese nur in sehr geringer Konzentration vorhanden sind.

Ein Trennvorgang in der Affinitätschromatographie umfaßt folgende Schritte:

1. Fixierung des biologischen Partners der zu isolierenden Substanz auf einem geeigneten Trägermaterial (z. B. Agarose, Polyacrylamid, Kieselgel).
2. Kontakt des modifizierten Trägers mit dem zu trennenden Gemisch; dabei muß die abzutrennende Komponente an den fixierten Partner fest gebunden werden ($K_M < 10^{-3}$ M).
3. Herauswaschen aller unspezifisch haftenden Verbindungen.
4. Elution der gewünschten Komponente durch Änderung der äußeren Bedingungen (pH-Wert, Ionenstärke, Temperatur) oder als Komplex durch Zugabe des fixierten Partners in löslicher Form.

Anstelle der immobilisierten biologischen Partner können in einigen Fällen ebenso erfolgreich besser zugängliche synthetische Verbindungen eingesetzt werden. So sind einige trägergebundene Farbstoffmoleküle, meist vom Triazintyp[2], in der Lage, bestimmte Proteine durch eine Reihe kooperativer nicht-kovalenter Wechselwirkungen zu binden.

Synthetische immobilisierte Moleküle, die kovalente Bindungen mit ihren Reaktionspartnern eingehen können, sind z. B. Thiol- und Hg-(II)-Gruppen[3, 4] (Bindung thiolhaltiger Proteasen), Quasisubstrate wie das Diisopropylfluorophosphat (Komplexbildung mit Serin-Esterase) sowie Boronsäuren[5] (Bindung von Diolen und Polyolen).

Gerade immobilisierte Boronsäuren gewinnen zunehmend an Bedeutung, da sie zur Abtrennung einer Vielzahl von Verbindungen, z. B. von Kohlenhydraten[6, 7], Nucleinsäuren[8], Ribonucleotiden und Ribonucleosiden[9, 10], Glycolipiden[11] und L-Dopa[12] eingesetzt werden können.

Insgesamt bietet die Affinitätschromatographie mit ihren zahlreichen Varianten[13] ein breites Spektrum an Anwendungsmöglichkeiten, wie die Reinigung von Enzymen und Impfstoffen im industriellen Maßstab[14], die Racemattrennung von D, L-Tryptophan[15] sowie in der Medizin die Entfernung unerwünschter Substanzen aus dem Blut (Abtrennung des Hepatitis-B-Virus[16] oder bestimmter Antikörper[17]).

Durch Kombination der sehr selektiven, aber langsamen Affinitätschromatographie mit der schnellen effizienten und empfindlichen Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) wurde auch die analytische Anwendung dieses Trennprinzips interessant. Es resultiert die sogenannte Hochdruckflüssigkeitsaffinitätschromatographie (HPLAC), die zur Identifizierung und Quantifizierung von Biomolekülen eingesetzt wird[18-20] (z. B. in der medizinischen Diagnostik).

Im Gegensatz zu den meisten anderen chromatographischen Prozessen ist die HPLAC ein diskontinuierliches Verfahren, d. h. zur Elution der gewünschten Komponente ist eine Änderung der Bedingungen in der Säule erforderlich. Während für viele präparative Anwendungszwecke der Affinitätschromatographie die Diskontinuität gegenüber der hohen Selektivität von untergeordneter Bedeutung ist, wäre für eine schnelle Analytik eine kontinuierliche Arbeitsweise von Vorteil, selbst wenn damit ein geringer Selektivitätsverlust verbunden ist.

Es war deshalb das Bestreben von G. Wulff, ein auf dem Prinzip der Affinitätschromatographie beruhendes Trennverfahren zu entwickeln, das einerseits hinreichend selektive Trennungen ermöglicht, andererseits eine kontinuierliche Arbeitsweise erlaubt. Dieses Ziel sollte an gut zugänglichen synthetischen Trägermaterialien verwirklicht werden. G. Wulff versuchte deshalb, das Selektivitätsprinzip natürlicher Rezeptoren auf synthetische Makromoleküle zu übertragen, indem er zwischen den Makromolekülen und dem zu bindenden "Substrat" eine ebenso wirkungsvolle Komplementarität herzustellen suchte, wie sie bei biologischen Partnern existiert. Darüberhinaus sollten die Haftmechanismen zwischen Trägermaterial und Substrat so gewählt werden, daß schnelle reversible Wechselwirkungen möglich sind.

Zur genauen Anpassung des Makromoleküls an ein bestimmtes Substrat wurde ein Verfahren zur Matrizenpolymerisation entwickelt.

Vorläufer dieses Verfahrens waren geprägte Kieselgele, die zunächst durch Fällung von Kieselsäure in Gegenwart von Methylorange hergestellt wurden[21]. Nach Herauslösung des Farbstoffes blieben geprägte Hohlräume im Kieselgel zurück. Auf ähnliche Weise wurde versucht, chirale Hohlräume durch Einbau optisch aktiver Substanzen zu erzeugen[22]. Diese Kieselgele besaßen jedoch noch keine ausreichende Spezifität für Racemattrennungen.

Das von G. Wulff und A. Sarhan entwickelte Verfahren ist in Abb.1 schematisch dargestellt.[23]

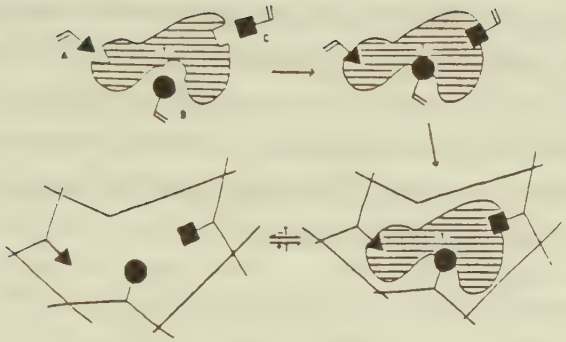


Abb. 1

Dabei dient das Substratmolekül als Matrize (T), an die polymerisierbare Moleküle (A, B, C) gebunden werden. Es entsteht ein Monomer, das zusammen mit Comonomeren (z. B. Divinylbenzol, Ethylenglycoldimethacrylat) in Gegenwart von Inertlösungsmitteln radikalisch polymerisiert wird. Die Anwesenheit von Inertlösungsmitteln ist notwendig, damit die resultierenden stark vernetzten Polymere eine makroporöse Struktur besitzen[24, 25]. Aus derartigen Polymeren kann das Matrizenmolekül mit geeigneten Lösungsmitteln entfernt werden.

Zurück bleiben Hohlräume, in die funktionelle Gruppen (Haftgruppen) hineinragen. Sowohl die Form der Hohlräume als auch die Anordnung der Haftgruppen in ihnen sollte damit für die Matrize maßgeschneidert sein.

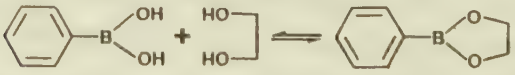
Es zeigte sich, daß Polymere mit derart geprägten Hohlräumen tatsächlich in der Lage sind, aus einem angebotenen Substanzgemisch die ursprünglich eingebaute Matrize zu erkennen und bevorzugt wieder einzulagern.

Dieses Verfahren der Matrizenpolymerisation wurde inzwischen von mehreren anderen Arbeitskreisen aufgegriffen[26-30].

Mit dem oben geschilderten Verfahren war die Herstellung selektiver Trägermaterialien möglich. Es galt nun, geeignete Haftgruppen für einen schnellen kontinuierlichen chromatographischen Prozeß zu finden. Diese Haftgruppen müssen so beschaffen sein, daß sie während der Polymerisation die Matrize fest binden, während der Chromatographie jedoch schnelle reversible Wechselwirkungen mit der Matrize eingehen. Bisher wurden im Arbeitskreis von G. Wulff folgende Haftgruppen untersucht, die beiden Forderungen entgegenkommen:

- die Boronsäurefunktion als Haftgruppe für Diole und Polyole[31-40]
- das Boronophthalid zur Bindung von Monoalkoholen und Aminen[41]
- die Aldehydgruppe zur Bindung von Aminen und Alkoholen[40, 42, 43]; ebenso können auch die Amino- bzw. die Alkoholfunktionen als Haftgruppen für Aldehyde benutzt werden[44-46]
- die elektrostatische Wechselwirkung als Haftgruppe zwischen Carboxyl- und Ammoniumgruppen[40, 47]

Meist wurden mehrere Haftgruppen gleicher oder unterschiedlicher Art in ein Polymer eingebaut, um durch die Kooperativität der Bindungskräfte eine weitgehende Analogie mit den aktiven Zentren natürlicher Makromoleküle herzustellen und damit eine möglichst hohe Selektivität zu erreichen. Von allen bisher untersuchten Haftgruppen erfüllen Boronsäuren die genannten Forderungen am besten. Sie reagieren schnell und reversibel nach Gleichung (1).



(1)

Boronsäurehaftgruppen wurden deshalb eingehend untersucht und mit einer Reihe verschiedener Matrizenmoleküle einpolymerisiert. Besonders spezifische Polymere konnten mit Mannosidderivaten als Matrize erhalten werden. Mannoside können aufgrund der Stellung ihrer OH-Gruppen mit 2 Boronsäurehaftgruppen reagieren. Ist zusätzlich ein sperriger Rest am C-1-Atom des Zuckers gebunden, so resultiert eine besonders gute Hohlraumprägung. Aufgrund der Chiralität der Mannoside kann die Spezifität der Hohlräume einfach und empfindlich getestet werden. Dazu wird ein Antipode als Matrize verwendet und das Polymer nach der Abspaltung mit dem Racemat dieser Matrize äquilibriert. Die ermittelten Trennfaktoren liefern dann ein Maß für die Güte der Hohlraumprägung. Mit α-D-Phenylmannosid als Matrize (Abb. 2) wurden bisher Trennfaktoren bis zu $\alpha = 3.66$ im Batchverfahren erhalten[39].

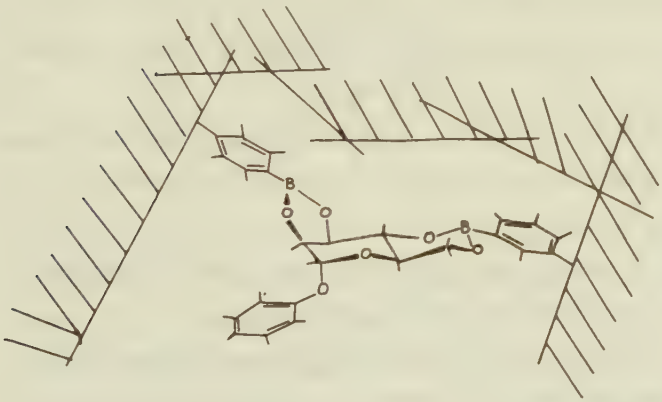


Abb. 2

Somit sollten diese Polymere genügend hohe Selektivität für einen Einsatz als Trägermaterialien in der chromatographischen Racemattrennung besitzen. Die Trennfähigkeit beruht in diesem Fall auf der Asymmetrie der Hohlräume, in denen die Enantiomeren von den funktionellen Gruppen unterschiedlich fest gebunden werden. Dagegen sind bei den meisten anderen Verfahren zur chromatographischen Racemattrennung chirale Atome beteiligt, die entweder im polymeren Trägermaterial selbst enthalten sind[48-50] oder in immobilisierten optisch aktiven Substanzen[51-54].

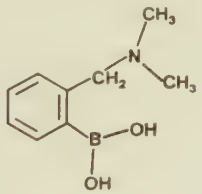
Neben der Nutzung zur Racemattrennung sollen hier noch zwei weitere Anwendungsmöglichkeiten der beschriebenen Polymere erwähnt werden. Zum einen können in den chiralen Hohlräumen asymmetrische Synthesen durchgeführt werden[55], zum anderen weisen diese Polymere aufgrund ihrer spezifisch einem Substrat angepaßten Hohlraumstruktur Parallelität zu Enzymen auf. Modellsubstanzen für Enzyme[56-63] sind sowohl zur Aufklärung als auch zur Nachahmung der enzymatischen Katalyse von großem Interesse.

Für eine erfolgreiche Katalyse an den beschriebenen Polymeren sind ebenfalls hohe Selektivität und schnelle reversible Wechselwirkungen zum Substrat die Voraussetzung.

Deshalb sollte zunächst der chromatographische Einsatz dieser Polymere zeigen, ob beide Forderungen erfüllt werden können.

Erste hochdruckflüssigkeitschromatographische Untersuchungen an Styrol/Divinylbenzolpolymeren mit Boronsäurehaftgruppen bestätigten eine relativ gute Selektivität der Polymere. Mit p-Nitrophenylmannosid als Matrize wurden Trennfaktoren bis zu $\alpha = 2.32$ erhalten[33]. Allerdings konnten diese hohen Werte nur bei sehr niedriger Durchflußgeschwindigkeit (0.1 ml/min) erreicht werden.

Darüberhinaus wurden beide Enantiomere des p-Nitrophenylmannosids in Form breiter Peaks mit großem Tailing eluiert. Dadurch resultierte trotz des hohen Trennfaktors eine schlechte Auflösung der Peaks und damit eine unvollständige Trennung. Die großen Peakbreiten waren ein Hinweis dafür, daß die Wechselwirkungen zwischen Polymer und zu trennenden Substanzen noch nicht mit ausreichender Schnelligkeit erfolgten. Als Ursache hierfür wurde zunächst eine zu langsame Gleichgewichtseinstellung bei der Reaktion der Boronsäurehaftgruppen mit den Mannosiden vermutet. Nähere Untersuchungen des Veresterungsgleichgewichts[64] (1) im Monomeren zeigten, daß die Reaktion intra- oder intermolekular durch Amine katalysiert werden kann. Ein Ersatz der Phenylboronsäurehaftgruppe im Polymer durch die 10^8 mal schneller reagierende Aminoboronsäure 1[38]



1

brachte jedoch keine wesentliche Verringerung der Peakbreiten. Daraus muß gefolgert werden, daß nicht die Reaktion selbst das entscheidende Hindernis für einen schnellen Massentransfer in der stationären Phase darstellt, sondern vermutlich die Diffusion durch das stark vernetzte Polymergerüst so langsam verläuft, daß sie zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt wird. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb, selektive Trägermaterialien nach dem Prinzip der Matrizenpolymerisation herzustellen, in denen eine weitgehend ungehinderte Diffusion stattfinden kann.

Chromatographische Untersuchungen an diesen Trägermaterialien sollten zeigen, ob durch die Beschleunigung der Diffusion schmalere Peaks und damit eine verbesserte Auflösung erhalten werden können.

Darüberhinaus sollte untersucht werden, ob durch die Einführung einer dritten Haftmöglichkeit am Mannosid eine Matrize entsteht, die noch spezifischere Hohlräume im Polymer hinterläßt. Hierdurch wäre eine weitere Steigerung des Trennfaktors und damit ebenfalls eine Verbesserung der Auflösung möglich.

II. Theoretischer Teil

1. Grundlagen

In der Chromatographie hängt die Auflösung R_S zweier Peaks über die Gleichung

$$R_S = \frac{1}{4}\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)\sqrt{N}\left(\frac{k'}{1+k'}\right) \qquad (2)$$

von dem Kapazitätsfaktor k', dem Trennfaktor α und der Anzahl der theoretischen Trennstufen N ab.
Damit stehen 3 Wege zur Verfügung, eine gegebene Auflösung zu verbessern. Abb. 3 zeigt den Einfluß der einzelnen Faktoren auf die Chromatogramme.

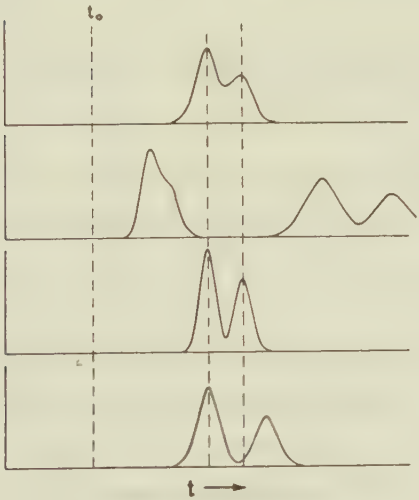


Abb. 3

Der einfachste Weg zu einer besseren Auflösung ist die Erhöhung des Kapazitätsfaktors k', da dieser leicht über die Elutionskraft der

mobilen Phase kontrolliert werden kann. Mit steigendem k' nehmen gleichzeitig die Peakbreite und die Analysenzeit zu. Deshalb sollte der Kapazitätsfaktor den Wert 10 nicht überschreiten.
Ist durch Vergrößerung von k' keine ausreichende Auflösung zu erreichen, so müssen α oder N erhöht werden. In den meisten Fällen ist N leichter zu beeinflussen als α, andererseits hat schon eine geringfügige Steigerung von α eine wesentliche Verbesserung der Auflösung zur Folge.

Der Trennfaktor α ist in der Chromatographie definiert als Verhältnis der Kapazitätsfaktoren zweier Substanzen

$$\alpha = \frac{k'_1}{k'_2} \qquad (3)$$

α hängt sowohl von der Zusammensetzung des Elutionsmittels als auch von der stationären Phase ab.

Die Anzahl der theoretischen Trennstufen N ist über die Gleichung

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{w^{1/2}} \right)^2 \qquad (4)$$

t_R : Bruttoretentionszeit

$w^{1/2}$: Peakbreite auf halber Höhe

mit der Peakbreite verbunden. Die wichtigsten Parameter, die die Größe von N bestimmen, sind in der Van-Deemter-Gleichung enthalten. Diese Gleichung stellt eine Beziehung her zwischen N bzw. der Höhe einer theoretischen Trennstufe H und der Strömungsgeschwindigkeit u der mobilen Phase:

$$\frac{L}{N} = H = C_e \cdot d_p + \frac{C_M \cdot d_p^2}{D_M} u + \frac{C_d \cdot D_M}{u} + \frac{C_{SM} \cdot d_p^2}{D_M} u + \frac{C_S \cdot d_f^2}{D_S} u \qquad (5)$$

$$= A \cdot u^{0.33} + B/u + C \cdot u + D \cdot u$$

C_d, C_e, C_M, C_{SM}, C_S : konstante Koeffizienten für die Trennstufenhöhe bei gut gepackten Säulen

d_p : Partikeldurchmesser

D_M : Diffusionskoeffizient in der mobilen Phase

D_S : Diffusionskoeffizient in der stationären Phase

d_f : Schichtdicke der stationären Phase

L : Länge der Säule

Durch die Wahl kleiner Partikeldurchmesser, einer niedrigen Durchflußgeschwindigkeit und großer Diffusionskoeffizienten in der mobilen Phase (zu erreichen durch erhöhte Temperatur und niedrige Viskosität des Elutionsmittels) kann der Beitrag der Terme A, B und C zur Trennstufenhöhe gering gehalten werden. Im Term D werden alle Faktoren berücksichtigt, die den Massentransfer in der stationären Phase beeinflussen. So geht bei der Adsorptionschromatographie die Geschwindigkeit des Adsorptions-/Desorptionsvorgangs in D ein, bei der Verteilungschromatographie der Diffusionskoeffizient in der stationären Phase und die Schichtdicke dieser Phase.

2. Erläuterung des Konzepts

Zur Lösung des vorliegenden Trennproblems, d.h. zur Verringerung der Peakbreiten und zur Verkürzung der Analysenzeit muß primär die Zahl der theoretischen Trennstufen N erhöht werden. Eine Vergrößerung des Kapazitätsfaktors ist hier nicht sinnvoll, wie aus Abb. 3 hervorgeht. Neben der Verbesserung von N ist auch die Optimierung des Trennfaktors α anzustreben, um die Auflösung soweit zu erhöhen, daß sie auch bei höheren Durchflußgeschwindigkeiten und niedrigeren Kapazitätsfaktoren noch ausreichend ist. Auf diesem Weg könnte die Analysenzeit verkürzt werden.

Die Trennstufenzahl N wird bei den hier beschriebenen Polymeren entscheidend vom Massentransferterm D beeinflußt. Die in den Termen A, B und C der Van-Deemter-Gleichung enthaltenen Parameter wurden bereits günstig gewählt, wie die hohen Trennstufenzahlen bei unspezifisch retardierten Substanzen wie Toluol oder Aceton zeigten[33].
Zur Geschwindigkeit des Massentransfers tragen hier vermutlich folgende Faktoren bei:

- die Diffusionsgeschwindigkeit der zu trennenden Moleküle durch das polymere Netzwerk
- die Schichtdicke der stationären Phase d_f, die in diesem Fall der Wegstrecke eines Moleküls vom Eintritt ins Polymergerüst bis zu einem der Hohlräume entspricht
- die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung bei der Reaktion der Haftgruppen mit der Matrize bzw. ihrem optischen Antipoden.

Da die Beschleunigung der Gleichgewichtseinstellung nur wenig verbesserte Trennstufenzahlen zur Folge hatte, ist anzunehmen, daß der wesentliche Grund für den langsamen Massentransfer in der geringen Diffusionsgeschwindigkeit liegt. Dieser Effekt kann noch dadurch verstärkt werden, daß die Wegstrecke eines Moleküls zum Hohlraum relativ lang ist, da die Hohlräume ziemlich vereinzelt im Polymergerüst liegen. (Meist betrug der Anteil an matrizenhaltigem Monomer nur ca. 5% des gesamten Monomergehalts).

Eine Diffusionskontrolle wird bei Reaktionen an hochvernetzten Polymeren oft beobachtet[65-67]. Sie tritt umso deutlicher in Erscheinung, je feinporiger das Netzwerk ist. Deshalb wurde versucht, alle nach dem Verfahren der Matrizenpolymerisation hergestellten Polymere makroporös zu gestalten. Untersuchungen an diesen Polymeren lassen allerdings auf eine inhomogene Struktur des Netzwerks schließen[33]. Durch unterschiedliche Copolymerisationsparameter der einzelnen Monomeren entstehen bei der Polymerisation sowohl stark vernetzte Kerne mit kleinen Poren als auch schwächer vernetzte Ketten, zwischen denen Makroporen liegen (Abb.4).

Abb. 4

chirale Hohlräume

Mikroporen

Makroporen

Insgesamt liegt eine Porengrößenverteilung vor, die von ca. 40 Å in den Kernen bis zu 400 Å zwischen den Polymerketten reicht. In Abhängigkeit von den Copolymerisationsparametern können die Hohlräume sowohl in den Ketten als auch in den Kernen lokalisiert sein. Eine einheitliche Verteilung und damit eine gleichmäßige Zugänglichkeit aller Hohlräume kann in keinem Fall vorausgesetzt werden.
Darauf deutet auch die Beobachtung hin, daß die einzelnen Matrizenmoleküle nach der Polymerisation mit unterschiedlicher Geschwindigkeit abgespalten werden, wobei meist 10-20% der Matrize auch bei langen Abspaltzeiten unerreicht bleiben.
Bei der Chromatographie an diesen Polymeren ist aufgrund der Inhomogenität des Netzwerks und der Hohlraumanordnung eine Dispersion der aufgegebenen Substanzzone zu erwarten, die besonders groß ist, wenn der gesamte Massentransfer sehr langsam verläuft, d.h. die Hohlräume vorwiegend in den stark vernetzten Bereichen liegen.

Die einfachste Möglichkeit zur Erleichterung der Diffusion zu den Hohlräumen wäre die Herstellung eines grobmaschigen Polymernetzwerks, welches fast ausschließlich Makroporen enthält. Dieses Ziel könnte sowohl durch die Herabsetzung des Vernetzergehalts als auch durch die Wahl eines längerkettigen Vernetzers (z. B. Butandioldimethacrylat anstelle von Ethylenglycoldimethacrylat) erreicht werden. Untersuchungen zur Abhängigkeit des Trennfaktors von der Netzwerkdichte zeigten, daß durch ein gröberes Netzwerk die Spezifität der Polymere herabgesetzt wird[68] (Abb. 5).

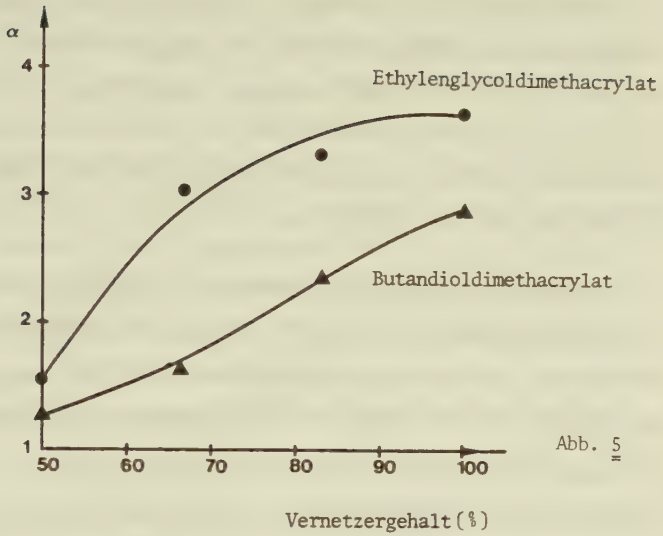


Abb. 5

Zudem sinkt mit dem Vernetzergehalt auch die Druckstabilität der Polymere und damit ihre Eignung als Trägermaterial in der Hochdruckflüssigchromatographie.

Es mußte deshalb nach anderen Möglichkeiten zur Herstellung von Trägermaterialien mit gut zugänglichen chiralen Hohlräumen gesucht werden.

Erfolgversprechend erschien der Weg, Kieselgel als druckstabiles Trägermaterial einzusetzen und dieses mit einer dünnen Schicht des matrizenhaltigen Polymers zu überziehen. Auf diese Weise sollte die Diffusionsbehinderung durch die Polymerschicht wesentlich zu verringern sein. Zu diesem Zweck müßte das Kieselgel entweder in Form unporöser

Teilchen eingesetzt werden, die nur an der Oberfläche matrizenhaltiges Polymer tragen, oder es müßte ein Kieselgel mit makroporöser Struktur verwendet werden, das sowohl auf der Oberfläche als auch in den Poren eine Polymerschicht trägt. Im letzten Fall ist die Porenweite des Kieselgels so groß zu wählen, daß auch nach dem Auskleiden der Poren mit Polymer noch genügend Raum für einen ungehinderten Ein- und Austritt der Matrize bleibt.

Der Trennfaktor α ist bei den beschriebenen durch Matrizenpolymerisation hergestellten Polymeren davon abhängig, wie exakt die Hohlraumstruktur auf die Matrize zugeschnitten werden konnte.
Die Güte des Matrizenabdrucks wird von folgenden Faktoren bestimmt:

- von der Geometrie des Matrizenmoleküls
  Eine besonders charakteristische Hohlraumprägung wird dann erzielt, wenn sterisch anspruchsvolle Moleküle mit einer gut fixierten Konfiguration als Matrize verwendet werden.

- vom Polymergerüst
  Das Polymergerüst muß während der Polymerisation die Konturen der Matrize möglichst gut nachzeichnen und nach Abspaltung der Matrize starr genug sein, um die Hohlraumgeometrie und die Anordnung der funktionellen Gruppen zu erhalten. Für eine ausreichende Starrheit des Polymergerüsts ist ein hoher Vernetzungsgrad erforderlich. Darüberhinaus darf das Polymer in den benötigten Lösungsmitteln keine starke Quellung oder Schrumpfung zeigen.

- von den funktionellen Gruppen im Hohlraum
  Diese liefern einen entscheidenden Beitrag zur Hohlraumspezifität dadurch, daß sie in ihrer Art und Anordnung der Matrize genau angepaßt sind.

Es ist anzunehmen, daß mit steigender Anzahl von Haftgruppen (möglichst verschiedener Art) der Trennfaktor verbessert wird, da die Zahl der "Auswahlkriterien" zur Selektion des ursprünglich eingebauten Antipoden zunimmt.

Eine Verbesserung von α gelang bisher sowohl über die Variation der Matrizenmoleküle als auch über die Optimierung der Polymerstruktur. Als Ergebnis wurde der hohe Trennfaktor α=3.66 mit Phenylmannosid als Matrize erhalten.[39] Es bleibt zu untersuchen, ob eine weitere Selektivitätssteigerung möglich ist, wenn Phenylmannosid mit einer weiteren funktionellen Gruppe versehen wird und damit über 3 Haftgruppen ans Polymer gebunden werden kann. Erste Untersuchungen an Polymeren mit 2 Boronsäure- und einer Aldehyd- bzw. Carboxylhaftgruppe ergaben Trennfaktoren bis zu α=2.26 [40]. Beim Vergleich der genannten Trennfaktoren ist zu berücksichtigen, daß der hohe Wert mit Phenylmannosid als Matrize nach zahlreichen Optimierungsversuchen erhalten wurde, während eine Optimierung der Polymerstruktur bei trifunktionellen Matrizen noch aussteht. Der Einfluß der dritten Haftgruppe auf die Selektivität der Polymere ist deshalb bisher noch ungeklärt. Da ein direkter Vergleich von Polymeren mit bi- und solchen mit trifunktionellen Matrizen aufgrund der unterschiedlichen Polymerstruktur schwierig ist, sollte der Einfluß der dritten Haftgruppe separat getestet werden anhand von Polymeren, die nur über eine Aldehydfunktion als Haftmöglichkeit verfügen.

3. Untersuchungen zum Einfluß der Diffusion auf den Massentransfer

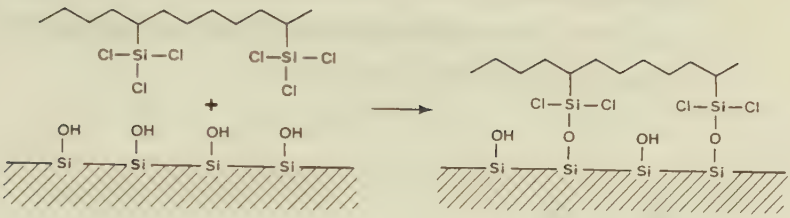
Dieser Teil der Arbeit ist der Herstellung und Untersuchung von Kieselgelen gewidmet, auf die dünne Schichten eines matrizenhaltigen Polymers aufgebracht wurden. Zunächst sollten anhand von Batchversuchen die günstigste Zusammensetzung sowie die geeigneten Herstellungsbedingungen dieser Kieselgelpolymere ermittelt werden. Hochdruckflüssigchromatographische Untersuchungen sollten anschließend klären, ob die weitgehend ungehinderte Diffusion in den Kieselgelpolymeren zu einem schnellen Massentransfer in der stationären Phase und damit zu schmalen Peaks führt.

3.1. Herstellung organischer Polymerschichten auf Kieselgel

Organische Polymere können sowohl durch physikalische Adsorption als auch über chemische Bindungen auf Kieselgel fixiert werden[69]. Da chemische Bindungen im allgemeinen eine stabilere Haftung garantieren, wurden sie in dieser Arbeit bevorzugt. Eine chemische Bindung zwischen Kieselgel und organischem Polymer kann über folgende Wege erreicht werden:

a.) Fixierung des fertigen Polymers auf Kieselgel

Voraussetzung für diese Methode sind geeignete Substituenten am Polymer (-Si-Cl, -Si-OR, R = Alkyl), die mit den OH-Gruppen des Kieselgels reagieren können (Schema 1).



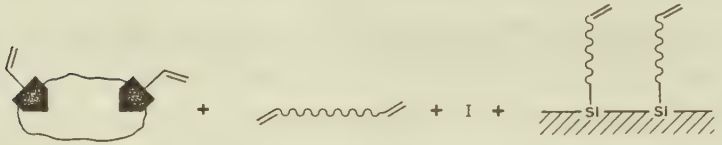
Schema 1

Diese Verknüpfungsmethode kann zur Fixierung linearer Polymere angewendet werden[70]. Auf vernetzte Polymere ist sie nicht übertragbar, da die Zugänglichkeit der Substituenten durch das Netzwerk stark behindert wird.

b.) Bindungsbildung zwischen Kieselgel und organischem Polymer während der Polymerisation

Zur radikalischen Matrizenpolymerisation unter gleichzeitiger Bindung des entstehenden Polymers an Kieselgel ist die Erzeugung von Radikalen an allen Reaktionspartnern erforderlich. Bei den Matrizenmonomeren und Comonomeren genügt zur Radikalerzeugung die Zugabe eines Initiators (z. B. Azobisisobutyronitril). Beim Kieselgel können durch Mahlen, Schlagen oder energiereiche Strahlung (γ- oder UV-Strahlen) direkt auf der Oberfläche Radikale gebildet werden (wahrscheinlich $-\dot{\underset{|}{\overset{|}{Si}}}\cdot$)[71]. Eine schonendere und definiertere Methode der Radikalerzeugung am Reaktionspartner Kieselgel besteht in der Modifizierung des Kieselgels mit radikalisch polymerisierbaren Verbindungen.

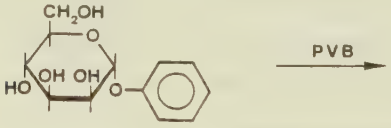
Zur Durchführung einer Matrizenpolymerisation auf Kieselgel nach der zuletzt genannten Methode muß der Polymerisationsansatz die in Schema 2 gezeigten Komponenten enthalten.



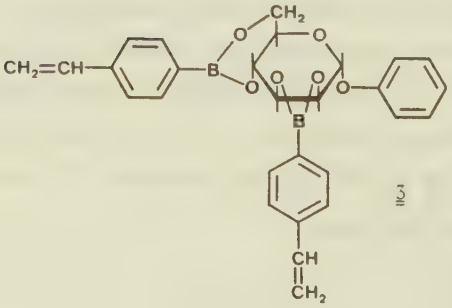
Matrizenmonomer | Comonomer | Initiator | kieselgelgebundenes Comonomer

Schema 2

Als Matrize wurde α-D-Phenylmannosid 2 ausgewählt. Durch Veresterung mit dem Anhydrid der p-Vinylphenylboronsäure (PVB) kann aus 2 das Matrizenmonomer 3 synthetisiert werden.

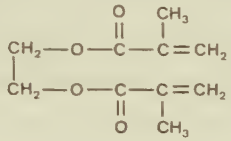


2



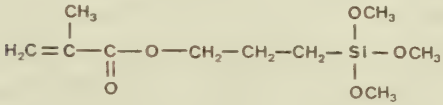
3

Als Vernetzer bzw. Comonomer sollte Ethylenglycoldimethacrylat (EGDMA) 4 eingesetzt werden,



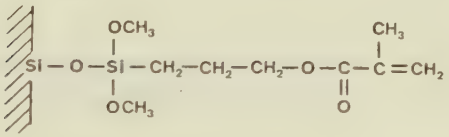
4

da an Polymeren, die diesen Vernetzer enthielten, bisher die höchsten Trennfaktoren erzielt wurden.
Die dem EGDMA verwandte Verbindung 5



5

kann mit Kieselgel zum fixierten Comonomer 6 umgesetzt werden.



6

Von 4 und 5 bzw. 6 ist aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit gute Copolymerisation zu erwarten.

Polymere, die nach diesem Verfahren synthetisiert werden, sollten nach Abspaltung der Matrize die in Abb. 6 skizzierte Hohlraumstruktur besitzen.

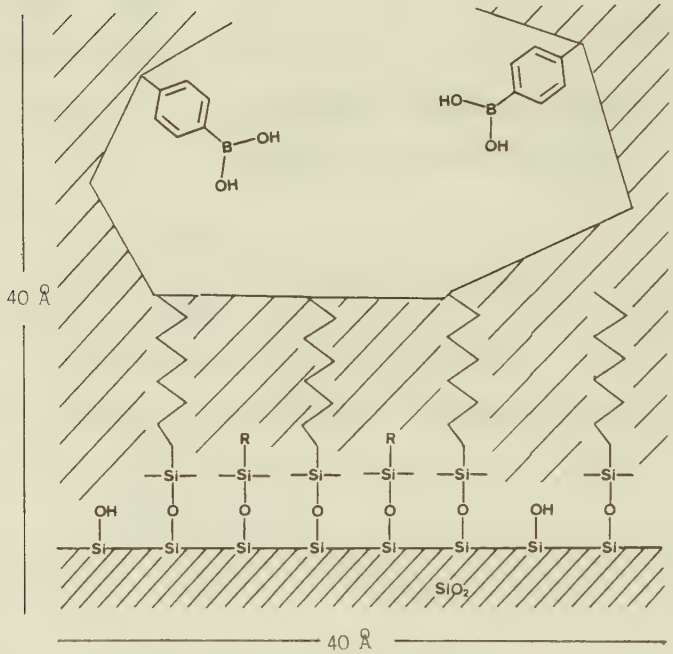
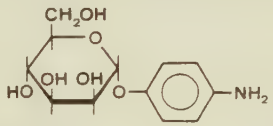


Abb. 6

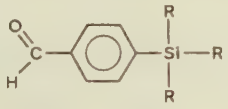
c.) Polymerisation nach Fixierung der Monomeren auf Kieselgel

Zur Anwendung dieser Methode auf die Matrizenpolymerisation am Kieselgel müßten sowohl das Comonomer 5 als auch das Matrizenmonomer 3 vor der Polymerisation an Kieselgel gebunden werden. Zur Fixierung des Matrizenmonomers auf Kieselgel ist es vorteilhaft, 3 mit einer dritten Haftgruppe zu versehen, welche Trichlor-(oder Trialkoxy-) silylgruppen trägt und somit die Bindung zum Kieselgel herstellen kann. Die Vinylgruppen an den beiden Boronsäurehaftgruppen ständen dann zum Aufbau des Polymergerüsts zur Verfügung. Anderenfalls müßte 3 über eine der Boronsäurehaftgruppen an Kieselgel gebunden werden. Dieser Weg ist problematisch, da er die gezielte Umsetzung des α-D-Phenylmannosids 2 mit 2 unterschiedlich substituierten Boronsäuren erfordert. Deshalb wurde zur direkten Fixierung des Matrizenmonomers am Kieselgel die trifunktionelle Matrize p-Aminophenyl-α-D-mannosid 7 gewählt.



7

7 sollte mit p-Trichlor-(oder Trialkoxy)-silylbenzaldehyd 8



R = Cl
R = OCH_3
R = OC_2H_5

8

und PVB zum Matrizenmonomer 9 umgesetzt werden, das, wie in Abb. 7 gezeigt, zusammen mit 5 an Kieselgel gebunden werden kann.

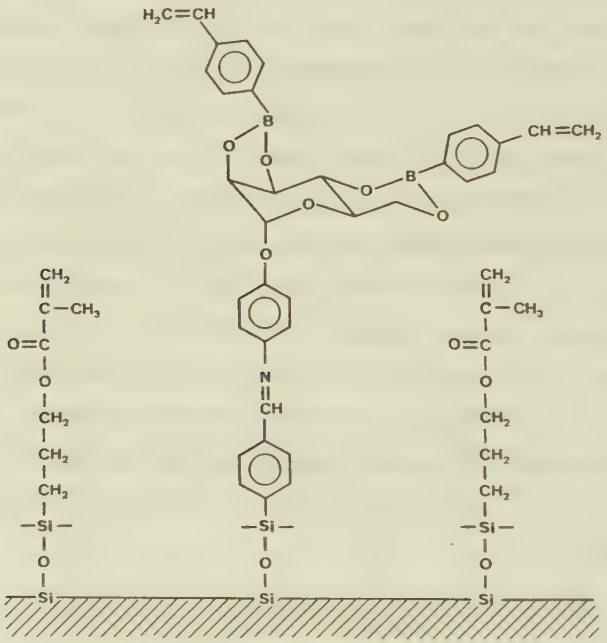


Abb. 7

Zusätzlich zu den gebundenen Monomeren muß der Polymerisationsansatz ein freies Comonomer (z. B. EGDMA) enthalten, damit nach Abspaltung der Matrize Hohlräume entstehen können (Abb. 8).

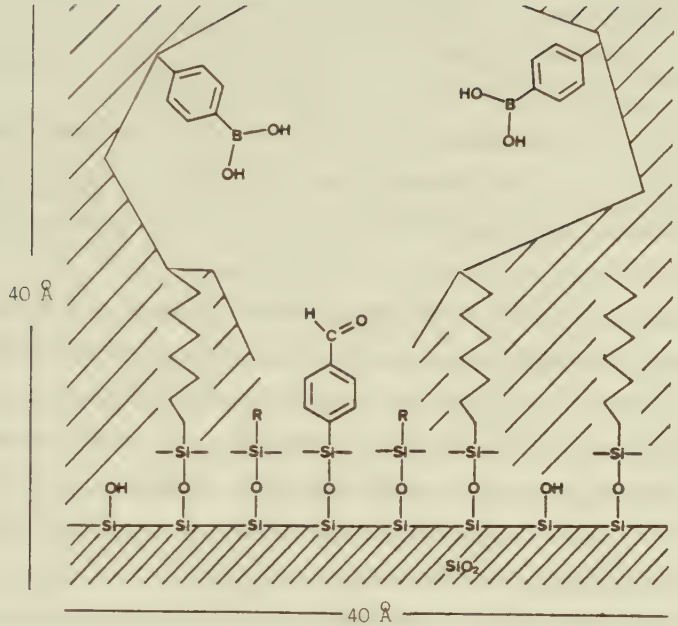


Abb. 8

Da die Verknüpfungsmethode c.) mit den Untersuchungen zum Einfluß einer dritten Haftgruppe im Zusammenhang steht, soll hierauf erst im zweiten Teil der Arbeit näher eingegangen werden.

Alle im folgenden beschriebenen Kieselgelpolymere wurden nach Methode b.) hergestellt.

Die für dieses Verfahren ausgewählte Matrize α-D-Phenylmannosid 2 kann ausgehend von D-Mannose über eine Pentaacetylierung[72], Umsetzung nach Helferich mit Phenol/$ZnCl_2$[73, 74] und anschließende Entacetylierung[75] erhalten werden.

Entsprechend wird das zur Herstellung des Racemats benötigte α-L-Phenylmannosid aus L-Mannose[76] hergestellt.
Die Veresterung von 2 mit PVB[77, 33] führt zum Matrizenmonomer 3.
Die beiden Comonomere 4 und 5 sind im Handel erhältlich.
Der vierte Reaktionspartner ist Kieselgel. Hier ist die Wahl eines Typs mit geeigneter Porengröße wichtig. Anhand der Dimensionen der Monomeren kann abgeschätzt werden, daß die aufzubringende Monomerschicht eine (mittlere) Dicke von mindestens 40 Å aufweisen wird. Deshalb ist anzunehmen, daß Poren von nur 60 oder 100 Å Durchmesser völlig oder zumindest größtenteils zupolymerisiert werden, sodaß aus ihnen kein ungehinderter Ein- und Austritt der Matrize möglich sein wird. Erst Poren von 500 oder 1000 Å Durchmesser sollten auch nach Auskleidung mit einer Polymerschicht eine weitgehend ungehinderte Diffusion erlauben. Deshalb sind nur weitporige Materialien für die chromatographischen Untersuchungen brauchbar.
Batchversuche wurden zu Vergleichszwecken auch an Kieselgelen mit 60 und 100 Å Porenweite durchgeführt.

Die spezifische innere und äußere Oberfläche aller eingesetzten Kieselgele wurde nach der BET-Methode[78] bestimmt (Tab. 1).

Tabelle 1: Oberflächen unmodifizierter Kieselgele

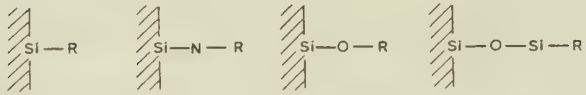
Porengröße (Å)	Oberfläche ρ (m^2/g)
60	460.6
100	306.5
500	173.2
1000	29.0

Mit zunehmender Porengröße nimmt die spezifische Oberfläche des Kieselgels ab und damit gleichzeitig seine Beladbarkeit. Im Extremfall, bei unporösen Glaskügelchen, ist keine innere Oberfläche mehr vorhanden, und es steht nur noch die äußere Oberfläche von ca. 1 m^2/g für die Modifizierung zur Verfügung.
Aufgrund der höheren Beladbarkeit wurden in dieser Arbeit makroporöse Kieselgele den unporösen vorgezogen.

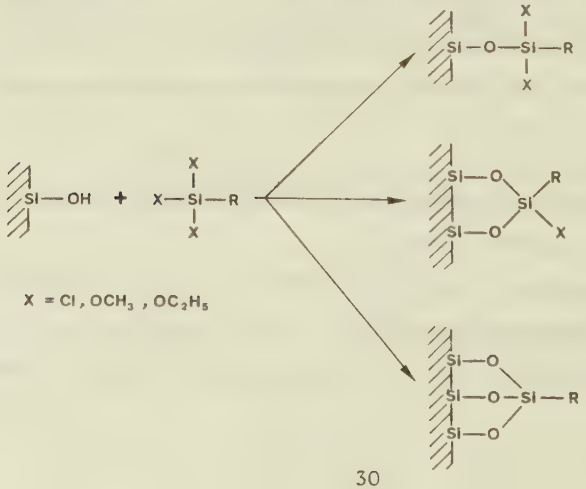
Die innere und äußere Oberfläche von Kieselgel ist mit OH-Gruppen bedeckt, deren Konzentration ca. 8 $\mu mol/m^2$ beträgt [79]. Damit besitzen benachbarte OH-Gruppen einen Abstand von ca. 0.5 nm. Beim Kontakt mit Feuchtigkeit (z. B. aus der Luft) werden über Wasserstoffbrücken eine oder mehrere Schichten von H_2O-Molekülen an die Si-OH-Gruppen gebunden. Dieses Wasser ruft bei der Reaktion von Kieselgel mit Chlor- oder Alkoxysilanen unerwünschte Polymerisationen hervor, wie im nächsten Abschnitt näher erläutert wird. Aus diesem Grunde ist eine gründliche Trocknung des Kieselgels vor der Umsetzung sowie der Ausschluß von Feuchtigkeit während der Umsetzung erforderlich. Zur Trocknung sind bei größerporigen Kieselgelen Temperaturen von ca. 120°C im Vakuum ausreichend, um das physikalisch adsorbierte Wasser zu entfernen [80]. Oberhalb von ca. 200°C beginnt bereits die Dehydroxylierung benachbarter Si-OH-Gruppen.

Im Anschluß an die Trocknung kann die chemische Modifizierung des Kieselgels vorgenommen werden.
Vorweg sollen einige allgemeine Erläuterungen zum Problem der Modifizierung von Kieselgelen dazu dienen, die Wahl der verwendeten Chlor- und Alkoxysilane sowie der Reaktionsbedingungen verständlich zu machen.

Von den verschiedenen Möglichkeiten, einen aromatischen oder aliphatischen Rest R an Kieselgel zu binden



wird meist die zuletzt aufgeführte sogenannte Siloxanverknüpfung bevorzugt, da sie eine relativ gute Stabilität gegen homolytische und heterolytische Spaltungen aufweist. Erst hohe Säurekonzentrationen (pH < 1) führen bei derart modifizierten Kieselgelen zur Abnahme des Kohlenstoffgehaltes durch Spaltung der Si-C-Bindung[81]. Im alkalischen Gebiet tritt oberhalb von pH 9 die Bildung löslicher Silikate auf. Die Knüpfung der Si-O-Si-R-Bindung erfolgt durch Umsetzung von Kieselgel mit Chlor- oder Alkoxysilanen. Dabei sind je nach Funktionalität der verwendeten Silane verschiedene Reaktionsprodukte möglich. In der vorliegenden Arbeit wurden meist trifunktionelle Silane eingesetzt, die theoretisch zu folgenden Produkten führen können (Schema 3).



Schema 3

Aus sterischen Gründen kann eine dreifache Bindung des Silans nach c.) ausgeschlossen werden. Trifunktionelle Silane reagieren überwiegend nach b.)[82, 83].

Die oben skizzierte Modifizierung von Kieselgel entspricht dem sogenannten "Bürstentyp"[84], d.h. einer Monoschicht von senkrecht zur Kieselgeloberfläche stehenden Molekülen (Abb. 9).

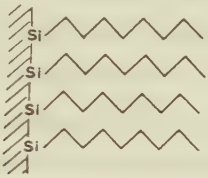
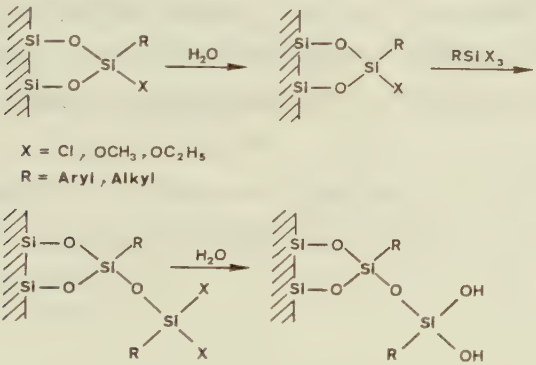


Abb. 9

Wird bei der Modifizierung von Kieselgel nicht auf Feuchtigkeitsausschluß geachtet, können die zunächst in einer Monoschicht gebundenen Silane zu polymeren Siloxanschichten weiterreagieren[85, 86]. Das Wasser bewirkt eine Hydrolyse der freien -Si-Cl- bzw.-Si-OR-Gruppen. Die dabei entstehenden Si-OH-Gruppen sind zur Reaktion mit weiteren Chlor- oder Alkoxysilanen fähig:

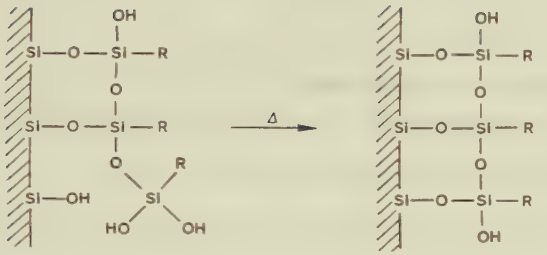


Schema 4

Für die Herstellung dünner Polymerschichten auf Kieselgel sollte die Bildung derartiger Siloxanschichten vermieden werden, um die Kieselgelporen nicht unnötig zu verkleinern.

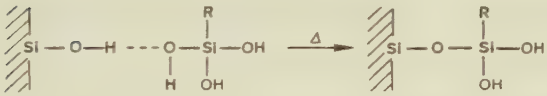
Alle Umsetzungen von Kieselgel mit Silanen erfolgten in wasserfreiem CCl_4. Evans, Dale und Little[83] testeten eine Reihe von Lösungsmitteln für die Modifizierung von Kieselgel und stellten fest, daß in CCl_4 umgesetzte Kieselgele die höchsten Belegungen aufwiesen und die beste Auflösung in der Chromatographie lieferten. Die Autoren führen diesen Effekt auf eine besonders gute Stabilisierung der Kieselgelsuspension in CCl_4 zurück, die aus den Dichteverhältnissen resultiert. Dieselben Autoren fanden, daß zur Modifizierung von Kieselgel mit Chlorsilanen 10-15 minütiges Rühren bei Raumtemperatur ausreicht. Um zur gleichen Belegung mit Alkoxysilanen zu gelangen, sind höhere Temperaturen und längere Reaktionszeiten erforderlich.

Im Anschluß an die Modifizierung muß das Kieselgel gründlich gewaschen werden, um nicht-gebundenes Silan zu entfernen, bevor dieses mit der Luftfeuchtigkeit polymere Siloxanschichten bilden kann. Nach der Entfernung des unumgesetzten Silans ist die Anwesenheit von Wasser nicht mehr kritisch sondern sogar erwünscht. Dadurch entstehen am fixierten Silan Silanolgruppen, die bei der anschließenden Trocknung des Kieselgels miteinander sowie mit freien OH-Gruppen des Kieselgels reagieren und eine noch festere Fixierung des organischen Moleküls bewirken[87] (Schema 5).



Schema 5

Sollten noch Silanmoleküle vorhanden sein, die lediglich physikalisch am Kieselgel adsorbiert sind, so werden diese ebenfalls bei dem Trocknungsprozeß fixiert[87] (Schema 6).



Schema 6

Unter den genannten Bedingungen fand die Umsetzung von Kieselgel mit dem Methacrylat 5 zum Produkt 6 statt. Der Grad der Belegung des Kieselgels mit organischen Molekülen wurde durch Elementaranalysen ermittelt. Aus dem %-C-Gehalt des modifizierten Kieselgels sowie der Oberfläche (vor der Modifizierung) kann mit Hilfe der Formel von Berendsen[88] und Hemetsberger[89] die Belegung (S_i) des Kieselgels berechnet werden.

$$S_i\ (\mu mol/m^2) = \frac{\%C \cdot 10^6}{(100 \cdot n \cdot 12 - \%C \cdot M) \cdot \rho_{BET}} \qquad (6)$$

n : Anzahl der C-Atome im gebundenen Alkyl- oder Arylsilan

ρ_{BET} : Spezifische Oberfläche des Kieselgels vor der Modifizierung in m^2/g

M : Molekulargewicht des gebundenen organischen Moleküls

Für Kieselgele mit 500 und 1000 Å Porenweite wurden folgende Werte erhalten:

K 500 : 2.94 $\mu mol/m^2$

K 1000 : 2.18 $\mu mol/m^2$

Werte zwischen 2 und 4 $\mu mol/m^2$ (je nach Größe des aufkondensierten Moleküls) sind bei derartigen Modifizierungen üblich[90]. Nach der Belegung des Kieselgels wurde, wie auch von anderen Autoren beschrieben[91], eine Abnahme der spezifischen Oberfläche beobachtet (Tab. 2)

Tabelle 2: Oberflächen von unmodifizierten und modifizierten Kieselgelen

	K 60	K 100	K 500	K 1000
ρ vor der Modifizierung (m^2/g)	460.6	306.5	173.2	29.0
ρ nach der Modifizierung (m^2/g)	361.9	209.3	56.9	24.5

Legt man einen Wert von 8 $\mu mol\ OH/m^2$ auf dem unmodifizierten Kieselgel zugrunde, so haben bei der Umsetzung mit dem Methacrylat 5 lediglich ein Viertel, oder, bei Annahme einer größtenteils bifunktionellen Reaktion, maximal zwei Drittel aller vorhandenen OH-Gruppen reagiert. Die restlichen können zum Teil von den relativ großen

Methacrylatmolekülen abgeschirmt werden, teilweise aber noch in freier Form vorliegen. Auch am Methacrylat selbst sind wahrscheinlich durch Hydrolyse der Methoxygruppen freie Hydroxygruppen entstanden. Diese OH-Gruppen können durch starke Adsorption in der Chromatographie stören[92]. Deshalb wurde der Versuch unternommen, sie zu verkappen. Ein oft verwendetes Reagenz für diesen Zweck ist Trimethylchlorsilan[93]. Diese Verbindung erwies sich jedoch als ungeeignet, denn die modifizierten Kieselgele besaßen nach der Umsetzung mit Trimethylchlorsilan einen geringeren %-C-Gehalt als vorher. Vermutlich bewirkt die bei der Reaktion entstehende Salzsäure eine partielle Spaltung der Esterbindung im Methacrylat 5.

Ein Zusatz von Pyridin während der Umsetzung erbrachte zwar etwas höhere Kohlenstoffanteile, die Werte lagen jedoch immer noch niedriger als vor der Reaktion. Erst die Verwendung von Hexamethyldisilazan anstelle von Trimethylchlorsilan führte zur Erhöhung des Kohlenstoffgehaltes um ca. 50%. Es ist anzunehmen, daß ein Großteil der erreichbaren OH-Gruppen bei dieser Reaktion verkappt wurde.

Nach dieser Modifizierung konnten die Kieselgele zur Polymerisation eingesetzt werden.

Zum Polymerisationsansatz waren einige theoretische Vorüberlegungen notwendig. Zur Herstellung dünner Polymerschichten durfte die Menge an matrizenhaltigem Monomer und EGDMA nicht zu groß gewählt werden. Andererseits resultieren aus einer zu niedrigen Konzentration an Boronsäurehaftgruppen Trennsäulen mit geringer Kapazität. Es wurde deshalb versucht, anhand der Größe der Kieselgeloberfläche und des Platzbedarfs eines Moleküls von 3 (der zu 150-200 $Å^2$ angenommen wurde) die Maximalmenge an 3 abzuschätzen, die in einer Schicht auf dem Kieselgel Platz fände.

Nach diesen Berechnungen darf zur Ausbildung einer Monoschicht ca. 1 µmol von 3 pro m^2 Kieselgeloberfläche im Polymerisationsansatz enthalten sein.

Der Zusatz an EGDMA, der nötig ist, um nach Abspaltung der Matrize chirale Hohlräume auf dem Kieselgel entstehen zu lassen, ist noch schwieriger abzuschätzen. Mit Sicherheit genügt eine wesentlich kleinere Menge als zur Herstellung stark vernetzter Polymere erforderlich ist, da bereits das Kieselgel als Stützgerüst fungiert. Die richtige Menge herauszufinden, bleibt hier weitgehend dem Experiment überlassen.

Der Anteil der Inertlösungsmittel am Polymerisationsansatz bestimmte bei den bisher durch Matrizenpolymerisation hergestellten hochvernetzten Polymeren die Porosität des Netzwerks. Bei Kieselgelen ist die makroporöse Struktur bereits vorgegeben und die Anwesenheit von Inertlösungsmitteln während der Polymerisation kann lediglich dazu dienen, auch die matrizenhaltige Polymerschicht makroporös zu gestalten. Wahrscheinlich könnte aufgrund der geringen Dicke dieser Polymerschicht auf Makroporosität sogar verzichtet werden. Von daher sollte der Anteil an Inertlösungsmittel bei der Herstellung von Kieselgelpolymeren keine wesentliche Bestimmungsgröße sein. Die Lösungsmittelmenge sollte nur so gering gewählt werden, daß die Polymerisation tatsächlich auf der Kieselgeloberfläche stattfindet und nicht überwiegend in Lösung.
Vor der Polymerisation ist ein größerer Lösungsmittelzusatz zur Monomermischung günstig, um eine rührbare Suspension zu erhalten und damit eine gleichmäßige Verteilung von Monomeren und Starter auf dem Kieselgel zu gewährleisten. Anschließend wurde das Lösungsmittel zum größten Teil wieder entfernt.

Bei den nach Verfahren a.) hergestellten Kieselgelpolymeren betrug der Restlösungsmittelgehalt im Polymerisationsansatz 0.3-0.4 g/g Kieselgel. Damit entspricht die Lösungsmittelmenge ungefähr der Menge an Monomer, wenn man berücksichtigt, daß sich ein Teil des Lösungsmittels bei der Polymerisation in der Dampfphase befindet.
Nachteilig bei dieser weitgehenden Entfernung des Lösungsmittels ist, daß auch ein Teil des EGDMA mitgerissen werden kann. Deshalb wurde bei einigen Kieselgelen, insbesondere bei solchen, die das leichter flüchtige Methylmethacrylat als Comonomer enthielten, eine etwas größere Lösungsmittelmenge im Polymerisationsansatz belassen.
(Verfahren b.), Lösungsmittelmenge 0.8-1.2 g/g Kieselgel).
Der Anteil an Initiator (AIBN) betrug bei allen Kieselgelen 10 mg/g Monomermischung. Die Polymerisationsansätze können Tab. 3 entnommen werden.
Monomermischung und Restlösungsmittel wurden vor Beginn der Polymerisation sorgfältig von Sauerstoff befreit, da dieser die radikalische Polymerisation inhibiert.
Alle Kieselgele wurden 3 d bei 70°C polymerisiert.

Als Produkte wurden nach Entfernung des restlichen Lösungsmittels Kieselgelpulver von meist unverändertem Aussehen erhalten. Bei Kieselgelen mit einer relativ dicken Polymerschicht war bei mikroskopischer Betrachtung eine Vergrößerung der Teilchen bzw. ein Zusammenklumpen mehrerer Partikel zu erkennen. Die elektronenmikroskopische Untersuchung eines Kieselgels mit dünner Polymerschicht (K 500 E) sowie eines unmodifizierten Kieselgels ließ mit Ausnahme der etwas glatteren Oberflächenstruktur des polymermodifizierten Kieselgels keine Unterschiede erkennen.

Tab. 3 : Zusammensetzung der Polymerisationsansätze(Kieselgelpolymere mit 2 Haftgruppen)

Kieselgelpolymer	Zusammensetzung der Monomermischung (g/g Kieselgel)			Monomerkonzentration	Verhältnis EGDMA + MMA zu Monomer 3	Polymerisations-bedingung
	EGDMA	MMA	Monomer 3	(µmol/m^2 Kieselgel)		
K 60 A	0.250	-	0.100	0.6	2.5 : 1	a
K 60 B	0.250	-	0.033	0.2	7.5 : 1	a
K 100 A	-	-	0.130	1.3	0 : 1	a
K 100 B	0.100	-	0.100	1.0	1 : 1	a
K 100 C	0.250	-	0.100	1.0	2.5 : 1	a
K 100 D	0.125	-	0.017	0.2	7.5 : 1	a
K 500 A	0.033	-	0.033	1.2	1 : 1	a
K 500 B	0.033	-	0.017	0.6	2 : 1	a
K 500 C	0.250	-	0.100	3.7	2.5 : 1	a
K 500 D	0.250	-	0.033	1.2	7.5 : 1	a
K 500 E	0.125	-	0.017	0.6	7.5 : 1	a
K 500 F	0.500	-	0.067	2.4	7.5 : 1	b
K 500 G	0.230	-	0.017	0.6	13.8 : 1	a
K 500 H	0.500	-	0.022	0.8	22.7 : 1	b
K 1000 A	0.250	-	0.033	2.8	7.5 : 1	a
K 1000 B	0.125	-	0.017	1.4	7.5 : 1	a
KM 500 A	-	0.250	0.033	1.2	7.5 : 1	b
KM 500 B	-	0.500	0.067	2.4	7.5 : 1	b
KME 500	0.125	0.125	0.033	1.2	7.5 : 1	b

a: Restlösungsmittelgehalt: 0.3-0.4 g/g Kieselgel

b: Restlösungsmittelgehalt: 0.8-1.2 g/g Kieselgel

3.2. Untersuchung Polymer-modifizierter Kieselgele im Batchverfahren

Die Kieselgelpolymere wurden zunächst mit wasserfreiem Benzol und Acetonitril gewaschen, um nicht-einpolymerisiertes Monomer ≧ herauszulösen. Drehwertmessungen in der Waschlösung zeigten, daß in den meisten Fällen weniger als 5% des Monomers nicht einpolymerisiert worden waren. Lediglich bei den Polymeren, die ausschließlich Methylmethacrylat als Comonomer enthielten, wurden ca. 30% an ≧ sowie nicht gebundenes Polymethylmethacrylat im Filtrat gefunden.
Die Abspaltung der Matrize erfolgte in Methanol/Wasser (60:40). In dieser Lösung wurden die Kieselgelpolymere gerührt, nach 2h abfiltriert und so oft mit frischer Abspaltlösung versetzt, bis im Filtrat nur noch vernachlässigbar kleine Mengen (1-2 mg) der Matrize nachweisbar waren.
Nach Beendigung der Abspaltung wurden die Kieselgelpolymere gründlich mit Acetonitril gewaschen und getrocknet. Diese Maßnahme war wichtig, damit bei der sich anschließenden Äquilibrierung (in Acetonitril/Methanol 4:1) eine definierte Methanolmenge und nur Spuren von Wasser zugegen waren. Bei zu hohem Methanol- oder Wassergehalt in der Äquilibrierungslösung wird kein Mannosid vom Polymer aufgenommen, da das Veresterungsgleichgewicht vollständig auf Seiten des freien Mannosids liegt. Umgekehrt wird in reinem wasserfreien Acetonitril fast das gesamte Mannosid ans Polymer gebunden. In Acetonitril/Methanol im oben angegebenen Verhältnis werden bei der Äquilibrierung ca. 50% des angebotenen Racemats wieder aufgenommen.
Alle Kieselgele wurden für die Dauer von 24h in der Äquilibrierungslösung gerührt. Die Menge des zugesetzten Racemats betrug jeweils 60% der Menge an abgespaltener Matrize.

Diese Batch-Äquilibrierungen liefern den Trennfaktor α. α ist hier definiert durch das Verhältnis der Verteilungskoeffizienten K_D und K_L:

$$\alpha = \frac{K_D}{K_L} \qquad (7)$$

wobei K_L die Verteilung des L-Antipoden zwischen Polymer und Lösung angibt, K_D entsprechend die Verteilung des D-Antipoden. Im Falle einer chemischen Reaktion haben K_D und K_L die Bedeutung von Gleichgewichtskonstanten für die Veresterung (bzw. Umesterung) von D- und L-α-Phenylmannosid.

Die Reaktionsgleichung für die Veresterung lautet:

$$\text{Boronsäure (Polymer)} + \text{D, L-Mannosid} \rightleftharpoons \text{Boronester (Polymer) des Mannosids} + 4\ H_2O \qquad (8)$$

$$K_{D,\,L} = \frac{\left[\text{Boronester des Mannosids}\right]\,[H_2O]^4}{[\text{Boronsäure}]\quad[\text{D, L-Mannosid}]} \qquad (9)$$

Da die Abspaltung und Äquilibrierung unter Zusatz von Methanol durchgeführt wurden, muß Gl. (8) insofern korrigiert werden, als die Boronsäuregruppen am Polymer nicht in freier Form vorliegen, sondern als Boronsäuremethylester. Die Äquilibrierung entspricht also in diesem Fall einer Umesterung und die Gleichgewichtskonstanten lauten:

$$K_{D'} = \frac{\left[\text{Boronester des D-Mannosids}\right]\,[\text{MeOH}]^4}{\left[\text{Boronsäure-methylester}\right]\quad[\text{D-Mannosid}]} \qquad (10)$$

$$K_{L'} = \frac{\left[\begin{array}{l}\text{Boronester}\\ \text{des L-Mannosid}\end{array}\right] [MeOH]^4}{\left[\begin{array}{l}\text{Boronsäure-}\\ \text{methylester}\end{array}\right] [\text{L-Mannosid}]} \qquad (11)$$

Methanol liegt im großen Überschuß vor und kann deshalb als konstant angesehen und in $K_{D'}$ bzw. $K_{L'}$ mit einbezogen werden.
Division von (10) und (11) liefert:

$$\alpha = \frac{K_{D'}}{K_{L'}} = \frac{\left[\begin{array}{l}\text{Boronester}\\ \text{des D-Mannosids}\end{array}\right] [\text{L-Mannosid}]}{\left[\begin{array}{l}\text{Boronester}\\ \text{des L-Mannosids}\end{array}\right] [\text{D-Mannosid}]} \qquad (12)$$

wobei die Angaben in Klammern molare Konzentrationen bezeichnen.

Nach beendeter Äquilibrierung wurde abfiltriert und mit wasserfreiem Acetonitril nachgewaschen, um nicht-gebundenes Mannosid vom Kieselgel zu entfernen. Im Filtrat wurde UV-spektroskopisch die Summe aus D- und L-Phenylmannosid bestimmt. Aus der Differenz zur eingesetzten Racematmenge erhält man die Gesamtmenge beider Antipoden am Polymer. Durch Messung des Drehwerts im Filtrat ist der Überschuß des L-Antipoden zu ermitteln, ebenso groß muß der Überschuß des D-Antipoden am Polymer sein. Aus diesen Werten können die prozentualen Anreicherungen von D- und L-Phenylmannosid im Filtrat und am Polymer errechnet und damit der α-Wert ermittelt werden.
Zu beachten ist noch, daß während der Äquilibrierung eine geringe Menge der Matrize, die bei der Abspaltung nicht erreicht wurde, nachgespalten werden kann. Daraus können Fehler bei der Berechnung von α entstehen.

Um diese und andere Fehlerquellen weitgehend auszuschalten, wurde parallel zu jeder Äquilibrierung ein Blindversuch ohne Racematzusatz durchgeführt. Die Werte der Probe wurden um die in der Blindprobe gemessenen korrigiert. Bei den optischen Drehungen des Filtrats waren dabei kaum Korrekturen nötig, woraus geschlossen werden kann, daß das Problem der Nachspaltung hier nicht in Erscheinung tritt.

Dagegen zeigten alle Blindproben geringe UV-Absorption im Bereich der Matrize. Möglicherweise waren hierfür sehr feine Kieselgelteilchen verantwortlich, die trotz Verwendung eines Membranfilters ins Filtrat gelangten.

Die in Tabelle 4 aufgeführten Untersuchungsergebnisse zur Abspaltrate, zur spezifischen Oberfläche und zum Trennfaktor geben Aufschluß über den Einfluß der Porengröße, des Monomergehalts, der Zusammensetzung der Monomermischung sowie der Polymerisationsbedingungen auf die Eigenschaften der Kieselgelpolymere. Systematische Untersuchungen in allen Richtungen waren aufgrund der Vielzahl der Parameter schwierig. Auch anhand der vorhandenen Ergebnisse sind jedoch Aussagen über die wichtigsten Faktoren möglich, die bei der Herstellung von Kieselgelen zum chromatographischen Einsatz beachtet werden sollten. Diese Faktoren sind im einzelnen:

a.) die Absolutmenge an Monomer 3

Die Menge sollte, wie bereits erwähnt, so klein gehalten werden, daß alle Moleküle in einer Schicht Platz finden können. Es galt zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen der Menge an Monomer 3 und dem Trennfaktor besteht. Dazu wurde die Menge an 3 von 0.1 bis 3.7 µmol/m^2 variiert, wobei der Wert von 3.7 µmol wahrscheinlich die Anordnung in einer Monoschicht nicht mehr zuläßt.

Tab. 4 : Untersuchungsergebnisse der Batchversuche

Kieselgelpolymer	Abspaltrate (%)	spezifische Oberfläche (m^2/g)	Trennfaktor α
K 60 A	87	276.7	1.24
K 60 B	89	271.9	2.64
K 100 A	65	195.1	1.00
K 100 B	60	200.4	1.00
K 100 C	61	251.4	1.34
K 100 D	67	197.5	1.92
K 500 A	91	90.9	1.00
K 500 B	88	78.8	1.00
K 500 C	90	124.7	1.47
K 500 D	85	142.0	3.45
K 500 E	86	86.3	2.18
K 500 F	79	164.9	2.65
K 500 G	80	138.5	1.90
K 500 H	78	86.2	2.45
K 1000 A	82	142.4	3.31
K 1000 B	89	54.6	2.12
KM 500 A	-	31.0	1.00
KM 500 B	-	36.2	1.00
KME 500	98	106.8	1.61

Die Ergebnisse zeigen, daß eine eindeutige Korrelation zwischen der Monomermenge und dem Trennfaktor nicht gegeben ist. Auch mit sehr geringen Belegungen waren gute Trennfaktoren zu erzielen.

b.) das Verhältnis von EGDMA zu Matrizenmonomer

Wichtig war die Ermittlung der Mindestmenge an EGDMA, die zum Aufbau chiraler Hohlräume erforderlich ist. Weiterhin sollten Zusammenhänge zwischen dem EGDMA-Gehalt und dem Trennfaktor sowie der Abspaltrate aufgezeigt werden. Das EGDMA/Monomer-Verhältnis wurde in den Grenzen von 0 zu 1 bis 22.5 zu 1 variiert. Erwartungsgemäß zeigten Kieselgelpolymere, die ohne EGDMA-Zusatz hergestellt wurden, keine Bevorzugung für einen der Antipoden. Auch ein Verhältnis der Comonomeren von 1:1 ist für die Prägung spezifischer Hohlräume noch nicht ausreichend, wie die Kieselgelpolymere K 100 B und K 500 A zeigen. Erst wenn EGDMA in mindestens 2.5 fachem Überschuß der Monomermischung zugesetzt wird, ist ein Trennfaktor $\alpha > 1$ zu beobachten, wie übereinstimmend die Kieselgele K 500 C und K 100 C erkennen lassen. Die Trennfaktoren steigen an, wenn das EGDMA/Monomer $\geq$-Verhältnis auf 7.5:1 erhöht wird. Darüber ist keine weitere Erhöhung der Trennfaktoren zu erkennen.
Die Abspaltraten zeigen keine signifikante Abhängigkeit vom EGDMA-Gehalt. Sie liegen in den meisten Fällen (mit Ausnahme der K 100-Kieselgele) ziemlich hoch und deuten damit eine gute Zugänglichkeit der Hohlräume an. Hieraus kann allerdings nicht der Schluß gezogen werden, daß keine Diffusionsbehinderung vorliegt, denn bei vernetzten, makroporösen Polymeren wurden ähnlich hohe Abspaltraten erzielt. Das ist, wenn man die Dauer der Abspaltung in

Betracht zieht, auch verständlich, da sie auch langsam diffundierenden Molekülen genug Zeit läßt, das polymere Netzwerk zu verlassen. Insgesamt kann aus diesen Untersuchungen der Schluß gezogen werden, daß zur Herstellung von Kieselgelen für die Chromatographie ein Verhältnis von EGDMA zu Monomer zwischen 2.5:1 und 7.5:1 gewählt werden sollte.

c.) Grad der Vernetzung

Der Vernetzungsgrad kann variiert werden, indem ein Teil des EGDMA durch ein monofunktionelles Monomer wie Methylmethacrylat (MMA) ersetzt wird. Je geringer der Vernetzungsgrad ist, desto geringer ist auch die Diffusionsbehinderung. Erwartungsgemäß führte die ausschließliche Verwendung von MMA zu einem Verlust der Spezifität bei den betreffenden Kieselgelen. Wird EGDMA zur Hälfte durch MMA ersetzt, so liegt der Trennfaktor deutlich niedriger als ohne MMA-Zusatz (vergleichbar sind KME 500 und K 500 D). Gleichzeitig wird die Zugänglichkeit der Hohlräume verbessert, wie die sehr hohe Abspaltrate von 98% bei Kieselgel KME 500 zeigt.

d.) Porengröße des Kieselgels

Hier sind wiederum aus der Abspaltrate wichtige Aufschlüsse zu gewinnen. Die Abspaltraten lagen bei den Kieselgelen mit 60, 500 und 1000 Å Porenweite jeweils in der gleichen Größenordnung, bei Kieselgelen mit 100 Å Porenweite aber deutlich niedriger. Dieser Effekt könnte folgende Ursache haben:
Bei Porenweiten von 100 Å und mehr ist eine Polymerisation sowohl in den Poren als auch auf der Oberfläche der Kieselgelteilchen zu erwarten. Sehr große Poren von 500 und 1000 Å werden dadurch nicht

wesentlich verkleinert und lassen noch genug Raum für den Austritt des Matrizenmoleküls. Beim Kieselgel 100 könnte dagegen ein Teil der Poren (es liegt immer eine gewisse Verteilung der Porengröße vor) völlig zupolymerisiert sein, sodaß Matrizenmoleküle, die in diesen Poren sitzen, bei der Abspaltung nicht entfernt werden können. Die höheren Abspaltraten beim Kieselgel 60 könnten dadurch zustande kommen, daß die matrizenhaltige Polymerschicht hier hauptsächlich auf der Oberfläche der Kieselgelteilchen gebildet wird, wo die Matrizenmoleküle gut erreichbar sind. Wahrscheinlich sind beim Kieselgel 60 die Poren durch Belegung mit § schon zu sehr verkleinert für die Aufnahme des Matrizenmonomers. Eine weitgehende Lokalisierung der matrizenhaltigen Polymerschicht auf der Oberfläche bedeutet, daß zur Erzeugung einer geringen Schichtdicke nur eine sehr niedrige Belegung des Kieselgels gewählt werden darf, da die äußere Oberfläche nur einen Bruchteil der inneren Oberfläche ausmacht. Diese Ergebnisse bestätigen, daß für die chromatographischen Untersuchungen nur die weitporigen Kieselgele 500 und 1000 herangezogen werden sollten.

e.) Inertlösungsmittel

Während die Kieselgeloberfläche zunächst nach der Modifizierung mit § abgenommen hatte, wurde nach dem Aufbringen der Polymerschicht in fast allen Fällen eine Zunahme der spezifischen Oberfläche beobachtet. Ausnahmen bildeten lediglich die Kieselgele KM 500 A und KM 500 B, die Methylmethacrylat als Comonomer enthielten. Die Vergrößerung der Kieselgeloberfläche nach der Belegung mit Polymer läßt darauf schließen, daß die Polymerschicht durch die Anwesenheit

von Inertlösungsmitteln makroporös gestaltet werden konnte. Das Ausmaß der Oberflächenvergrößerung kann bei den meisten Kieselgelpolymeren mit der Menge an aufgebrachtem Matrizenmonomer und Comonomer korreliert werden.

3.3. Einsatz Polymer-modifizierter Kieselgele in der Hochdruckflüssigchromatographie

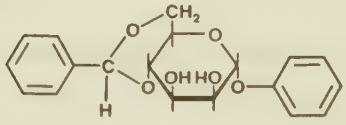
Für die hochdruckflüssigchromatographischen Untersuchungen wurden Kieselgele mit 500 und 1000 Å Porenweite in folgenden Korngrößen eingesetzt:

K 500 : 8 - 15 µm

K 1000 : 10 - 20 µm

Diese Fraktionen wurden durch Windsichtung des Kieselgels erhalten. Die Vorbehandlung, Modifizierung und Polymerisation der Kieselgele erfolgte wie in Kapitel 3.1. beschrieben. Die Polymerisationsansätze und -bedingungen sind in Tab. 5 aufgeführt.

Um den Einfluß der Polymerschichtdicke auf Trennstufenzahl und Peakbreite zu studieren, wurden zunächst 3 Kieselgele mit unterschiedlichem Comonomer (EGDMA)-Gehalt, aber gleichem Matrizenmonomergehalt synthetisiert (D1, D2, D3). An diesen Trägermaterialien wurden D- und L-Phenylmannosid 9, 4,6-Benzyliden-α-D-phenylmannosid 10



10

und Phenylglycol 11 chromatographiert.

Tab. 5 : Zusammensetzung der Polymerisationsansätze (Kieselgelpolymere für die HPLC)

Kieselgelpolymer	Zusammensetzung der Monomermischung (g/g Kieselgel)			Monomerkonzentration ($\mu mol/m^2$ Kieselgel)	Verhältnis EGDMA zu Monomer bzw. PBGE	Polymerisations-bedingung
	EGDMA	Monomer	PBGE			
D-1	0.030	0.010	-	0.36	3 : 1	b
D-2	0.075	0.010	-	0.36	7.5 : 1	b
D-3	-	0.010	-	0.36	-	b
D-4	-	0.067	-	2.54	-	a
D-5	-	-	0.021	2.54	-	a
D-6	0.133	0.017	-	1.48	7.5 : 1	a

EGDMA : Ethylenglycoldimethacrylat

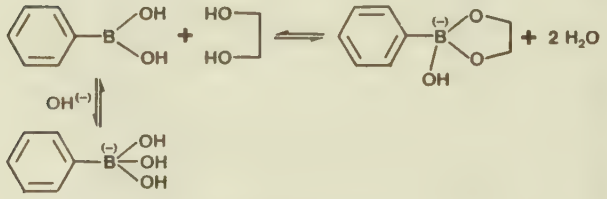
PBGE : p-Vinylphenylboronsäureglycolester

a : Restlösungsmittelgehalt 0.8-1.2 g/g Kieselgel

b : Restlösungsmittelgehalt 0.3-0.4 g/g Kieselgel

Für alle chromatographierten Substanzen wurden die Kapazitätsfaktoren berechnet. Dabei diente das Retentionsvolumen des Toluols als Totvolumen. Aus den Retentionszeiten und Halbwertsbreiten wurde nach Gl. (4) die Anzahl der theoretischen Trennstufen berechnet. Alle k'- und N-Werte sind in Tab. 6 aufgeführt.

Zunächst wurden verschiedene Elutionsmittel an den 3 Kieselgelpolymeren getestet, um geeignete Bedingungen für die Racemattrennung zu finden. In reinem Methanol wurden alle chromatographierten Substanzen nur schwach (und nicht sehr unterschiedlich) retardiert, da das Gleichgewicht der Veresterung (bzw. Umesterung) fast vollständig auf Seiten der freien Diole bzw. Polyole lag. Größere Differenzen in der Retardierung traten auf, wenn als Elutionsmittel Methanol + 0.5% NH_4OH (25%ige Lösung von NH_3 in H_2O) verwendet wurde. Der Basenzusatz führte zu erhöhten Kapazitätsfaktoren bei allen untersuchten Mannosiden, dagegen zu etwas niedrigeren Werten für Phenylglycol. Diese Diskrepanz im Elutionsverhalten ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die chromatographierten Diole und Polyole in unterschiedlichem Maße von zwei gegenläufigen Effekten beeinflußt werden, die bei der Veresterung in wäßrig-ammoniakalischer Methanollösung wirksam sind. Im Alkalischen verläuft die Boronesterbildung und -hydrolyse über folgende Gleichung



(13)

Tab. 6 : Trennstufenzahlen und Kapazitätsfaktoren an D1-D6

mobile Phase	Durchfluß-geschwindigkeit (ml/min)	Toluol N	PG N	PG k'	BPM N	BPM k'	DPM N	DPM k'	LPM N	LPM k'	
CH_3OH	1.0	1369	228	0.30	436	0.18	157	0.26	183	0.21	
	0.1	5560	655	0.32	1036	0.08	283	0.30	325	0.27	
CH_3OH +	1.0	1603	648	0.18	153	0.85	119	0.50	101	0.38	
0.5% NH_4OH	0.1	3865	1519	0.21	529	1.10	218	0.74	194	0.64	
CH_3OH +	1.0	1882	761	0.17	242	1.23	181	0.50	208	0.40	D1
2.0% NH_4OH	0.1	3559	2320	0.18	681	1.16	412	0.47	433	0.39	
CH_3OH +	1.0	1630	743	0.13	249	0.81	323	0.25	312	0.25	
2.0% NH_4OH +	0.1	4303	2778	0.21	807	0.95	835	0.38	917	0.38	
0.5% H_2O											
CH_3OH	1.0	1698	201	0.26	371	0.29	69	0.26	137	0.18	
	0.1	2653	434	0.31	629	0.31	59	0.49	199	0.30	
CH_3OH +	1.0	1673	732	0.22	122	1.27	58	0.76	75	0.67	
0.5% NH_4OH	0.1	2899	1061	0.21	286	1.30	94	0.80	162	0.73	
CH_3OH +	1.0	1978	986	0.18	.89	1.47	86	0.62	129	0.56	D2
2.0% NH_4OH	0.1	2849	1491	0.21	292	1.56	128	0.76	167	0.50	
CH_3OH +	1.0	1882	1011	0.16	137	1.34	131	0.46	108	0.51	
2.0% NH_4OH +	0.1	2218	1719	0.26	322	1.50	241	0.69	276	0.72	
0.5% H_2O											

PG: Phenylglycol; BPM : 4, 6-Benzyliden-α-D-mannosid; DPM, LPM : D- bzw. L-Phenylmannosid

Fortsetzung Tab. 6

mobile Phase	Durchfluß-geschwindigkeit (ml/min)	Toluol N	PG N	PG k'	BPM N	BPM k'	DPM N	DPM k'	LPM N	LPM k'	
CH_3OH	1.0	3820	889	0.21	921	0.10	675	0.12	785	0.13	
	0.1	3943	2080	0.15	2049	0.08	1526	0.14	1358	0.13	
CH_3OH +	1.0	3845	1657	0.16	460	0.61	326	0.46	295	0.46	
0.5% NH_4OH	0.1	3894	2487	0.13	1288	0.58	670	0.39	753	0.39	D3
CH_3OH +	1.0	3968	1847	0.14	463	0.65	371	0.40	436	0.41	
2.0% NH_4OH	0.1	3968	2854	0.13	1155	0.66	637	0.40	692	0.43	
CH_3OH +	1.0	4840	2046	0.12	482	0.58	419	0.31	433	0.30	
2.0% NH_4OH +	0.1	3943	3466	0.17	1248	0.59	959	0.36	721	0.32	
0.5% H_2O											
CH_3OH	1.0	1696	148	0.26	349	0.31	57	0.29	109	0.14	
	0.1	-	289	0.30	472	0.37	49	0.36	139	0.36	
CH_3OH +	1.0	1697	664	0.16	373	1.23	96	0.50	113	0.49	
2.0% NH_4OH	0.1	-	-	-	-	-	141	0.66	-	-	
CH_3OH +	1.0	1697	-	-	452	1.14	99	0.49	115	0.43	D6
2.0% NH_4OH +	0.1	2095	-	-	184	1.14	162	0.54	209	0.46	
0.5% H_2O											
CH_3OH +	1.0	1521	794	0.14	-	-	184	0.31	175	0.29	
2.0% NH_4OH +	0.1	1880	1023	0.13	242	1.11	239	0.41	276	0.37	
2.0% H_2O											

Fortsetzung Tab. 6

mobile Phase	Durchfluß-geschwindigkeit (ml/min)	Toluol	PG		DPM		
			N	k'	N	k'	
CH_3OH	1.0	3573	62	0.82	24	1.00	
	0.2	3360	118	0.88	30	1.25	
CH_3OH +	1.0	3573	554	0.52	49	3.12	
0.5% NH_4OH	0.2	-	-	-	222	3.94	
CH_3OH +	1.0	1211	866	0.40	133	3.32	D4
2.0% NH_4OH	0.2	2528	1247	0.40	98	4.13	
CH_3OH +	1.0	1654	628	0.32	149	2.34	
2.0% NH_4OH +	-	-	-	-	-	-	
0.5% H_2O							
CH_3OH	1.0	724	102	0.31	67	0.22	
	0.2	522	164	0.32	113	0.29	
CH_3OH +	1.0	520	400	0.37	41	1.19	
0.5% NH_4OH	0.05	1127	582	0.25	118	1.68	
CH_3OH +	1.0	731	620	0.19	40	1.52	D5
2.0% NH_4OH	0.2	438	240	0.17	65	1.56	
CH_3OH +	1.0	731	554	0.16	43	1.16	
2.0% NH_4OH +	0.2	438	242	0.16	72	1.25	
0.5% H_2O							
CH_3OH +	0.5	680	524	0.13	72	0.74	
2.0% NH_4OH +	0.05	1073	656	0.16	180	0.78	
2.0% H_2O							

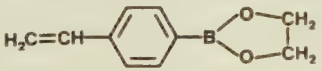
Durch die Anwesenheit von OH^--Ionen wird das Gleichgewicht dieser Reaktion nach rechts verschoben, die Retardierung damit verstärkt. Der Wassergehalt im Ammoniak hebt diesen Effekt mehr oder weniger wieder auf, da Wasser das Gleichgewicht auf die linke Seite verschiebt. Eine Antrennung der Enantiomeren konnte auch in Methanol + 0.5% NH_4OH nicht erreicht werden. Dies war erst bei Zusatz von 2% NH_4OH zum Methanol möglich. Bei sehr geringem Durchfluß (0.1 ml/min) wurde an D2 der Trennfaktor α=1.16 für D, L-Phenylmannosid erhalten. Erwartungsgemäß konnte an D3, einem Kieselgelpolymer, das ohne EGDMA hergestellt worden war, in keinem der Elutionsmittel eine Antrennung des Racemats beobachtet werden. Auch ein EGDMA/Matrizenmonomer-Verhältnis von 3:1 (D1) reichte in der Chromatographie nicht zur Trennung aus.
Auf eine weitere Erhöhung des Ammoniakgehalts im Methanol wurde wegen der Alkaliempfindlichkeit des Kieselgels und der Si-C-Bindung des fixierten Silans verzichtet.

An D2 wurde für α-D-Phenylmannosid eine Trennstufenzahl von N=128 errechnet. Dieser Wert liegt nicht wesentlich höher als die Trennstufenzahlen an den bisher untersuchten Polymeren[33]. Ein quantitativer Vergleich der Werte ist schwierig, da die Güte der Säulenpackung variiert. Darüberhinaus wird eine exakte Bestimmung der Trennstufenzahlen dadurch erschwert, daß die Peakbreiten unsymmetrischer Peaks von Hand nicht mit großer Genauigkeit ermittelt werden können.
Die unter Berücksichtigung der genannten Fehlermöglichkeiten nur geringfügig unterschiedlichen Trennstufenzahlen von D2 und den bisher untersuchten Polymeren lassen bereits vermuten, daß die Diffusion durch das Polymergerüst nicht entscheidend zur Verlangsamung des Massentransfers beiträgt.

Beim Vergleich der Kieselgelpolymere D1, D2 und D3 fällt allerdings auf, daß die Bodenzahlen in der Reihe D2 → D1 → D3, d.h. mit abnehmendem EGDMA-Gehalt des Kieselgels zunehmen. Dieses Ergebnis deutet zunächst doch auf einen Einfluß der Polymerschichtdicke und damit auf eine Diffusionsbehinderung hin. Mit abnehmendem EGDMA-Gehalt sinken auch die an den Kieselgelen erhaltenen Kapazitätsfaktoren, obwohl in allen Fällen die gleiche Menge an Matrizenmonomer im Polymerisationsansatz enthalten war und damit die gleiche Menge an Boronsäuregruppen auf den Kieselgelen vorhanden sein sollte. Es ist denkbar, daß das Matrizenmonomer bei den einzelnen Kieselgelen in unterschiedlichem Maße einpolymerisiert wurde, und zwar um so mehr, je mehr EGDMA der Polymerisationsansatz enthielt. Darüberhinaus könnte während der Elution bzw. Konditionierung mit ammoniakalischer Methanollösung ein Teil der Boronsäuregruppen durch Spaltung der Si-C-Bindung vom Kieselgel entfernt worden sein. Der Angriff an der Si-C-Bindung wird um so leichter möglich sein, je dünner die "Polymerschutzschicht" ist.

Um endgültig zu klären, ob die verbesserten Trennstufenzahlen an D3 gegenüber D2 und D1 lediglich durch die geringe Kapazität von D3 bedingt sind oder auf der Ausschaltung der Diffusionsbehinderung an D3 beruhen, wurden 2 weitere Kieselgele synthetisiert (D4 und D5), die ebenfalls keine Polymerschicht enthielten, aber eine größere Menge an Boronsäurehaftgruppen als D3.

Bei D5 wurde anstelle des Matrizenmonomers 3 p-Vinyl-phenylboronsäureglycolester 12



12

aufpolymerisiert. An diesem Kieselgelpolymer sind nach Abspaltung des Glycols Boronsäurehaftgruppen in statistischer Verteilung vorhanden, während an D4 durch Aufpolymerisation des Matrizenmonomers 3 jeweils zwei Boronsäuregruppen in definiertem Abstand zueinander stehen. An D5 sollten im Normalfall alle Mannoside nur einfach gebunden werden, an D4 könnte Phenylmannosid auch zweifach gebunden werden. Ein signifikant unterschiedliches Verhalten des chromatographierten D-Phenylmannosids an D4 und D5 wurde nicht beobachtet.
Sowohl an D4 als auch an D5 waren die Kapazitätsfaktoren wesentlich höher als bei D3. Die Trennstufenzahlen lagen an diesen Kieselgelen ohne Polymerschicht in der gleichen Größenordnung wie bei D2 und bei rein organischen vernetzten Polymeren.

Wenn sogar an frei zugänglichen Boronsäuregruppen, wie sie an D4 und D5 vorliegen, keine schnelle Chromatographie mit geringen Peakbreiten möglich ist, kann die Diffusion nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt beim Massentransfer sein, sondern die Ursache der großen Peakverbreiterung muß in der langsamen Reaktionsgeschwindigkeit liegen. Andererseits hatten die Untersuchungen von R. Grotstollen[38] ergeben, daß auch eine Beschleunigung der Gleichgewichtseinstellung um den Faktor 10^8 (gemessen im monomeren System) nur wenig verringerte Peakbreiten bei der Chromatographie zur Folge hat. Eine gewisse Verringerung der Veresterungsgeschwindigkeit ist beim Übergang vom monomeren System auf die analoge Reaktion am Polymer durchaus zu erwarten aufgrund der geringen Beweglichkeit polymer-gebundener Boronsäurehaftgruppen. Hierin kann allerdings nicht die Hauptursache für die langsame Gleichgewichtseinstellung am Polymer bzw. am Kieselgel liegen, da Phenylglycol im Gegensatz zu den Mannosiden als relativ scharfer Peak eluiert wurde.

Eine Erklärung für das unterschiedliche Verhalten von Phenylglycol und Mannosiden liefern neuere Untersuchungen von W. Dederichs[94]. Während bei allen bisherigen Messungen der Veresterungs- bzw. Umesterungsgeschwindigkeit verschiedener Boronsäuren im Monomeren Propandiol als Reaktionspartner zugesetzt wurde, untersuchte W.Dederichs die Reaktivität verschiedener Alkohole gegenüber Boronophthalid. Dabei wurde eine starke Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit vom sterischen Anspruch des Alkohols gefunden.
Da auch Mannoside sterisch anspruchsvolle Alkohole darstellen, sind vermutlich die starken Peakverbreiterungen ebenfalls auf eine langsame Gleichgewichtseinstellung aufgrund sterischer Hinderung zurückzuführen. Dagegen ist Phenylglycol als weniger sperriges Molekül zu schnelleren Austauschreaktionen fähig. Durch die genannten Untersuchungen wird ebenfalls verständlich, warum bisher beim Einsatz von Aminoboronsäuren zwar im Monomeren (mit Propandiol als Alkoholkomponente) schnelle Gleichgewichtseinstellungen möglich waren, polymergebundene Aminoboronsäuren (mit Mannosiden als Reaktionspartner) dagegen langsam reagierten und breite Peaks lieferten.
Nachdem die Untersuchungen der Kieselgelpolymere D1 - D5 ergeben hatten, daß die Schichtdicke des Polymers auf dem Kieselgel keinen entscheidenden Einfluß auf die Geschwindigkeit des Massentransfers ausübt, wurde anhand des Kieselgels D6 getestet, ob durch Erhöhung der Menge an matrizenhaltigem Polymer auf dem Kieselgel der Trennfaktor verbessert werden kann.
Für die Racemattrennungen an D6 wurde eine Reihe weiterer Elutionsmittel getestet. Die meisten der in der Literatur beschriebenen Trennungen an immobilisierten Boronsäuren werden in wäßriger Pufferlösung als Elutionsmittel ausgeführt.[5]

An den hier beschriebenen Kieselgelpolymeren waren in Pufferlösungen (getestet wurde der Bereich von pH 5 bis pH 9) keine Trennungen möglich. In basischer Pufferlösung liegt das Gleichgewicht der Boronesterbildung so weit auf Seiten des Esters, daß die chromatographierten Zucker und Phenylglycol nicht mehr eluiert wurden. Ebenso wurde in wasserfreiem THF und wasserfreiem Acetonitril keine Elution beobachtet. Wird ein Gemisch aus Acetonitril und Methanol (4:1), wie es im Batchverfahren benutzt wurde, als Elutionsmittel eingesetzt, so wurden zwar die Enantiomeren von 2 getrennt eluiert, mit ähnlich hohen Trennfaktoren wie im Batchverfahren, die Trennung erfolgte aber so langsam, daß dieses Lösungsmittelsystem für chromatographische Zwecke nicht geeignet ist.
Als gutes Elutionsmittel erwies sich Acetonitril mit geringem Zusatz an Wasser und Ammoniaklösung.
Da die Trennungen sehr empfindlich vom Wassergehalt des Elutionsmittels abhängen, ist Acetonitril wegen seiner geringen Tendenz zur Wasseraufnahme besser geeignet als Methanol.

Eine Trennung mit relativ guter Auflösung (R_s = 0.9) und einem Trennfaktor von α = 1.28, die am Kieselgel D6 erhalten wurde, ist in Abb. 10 dargestellt.

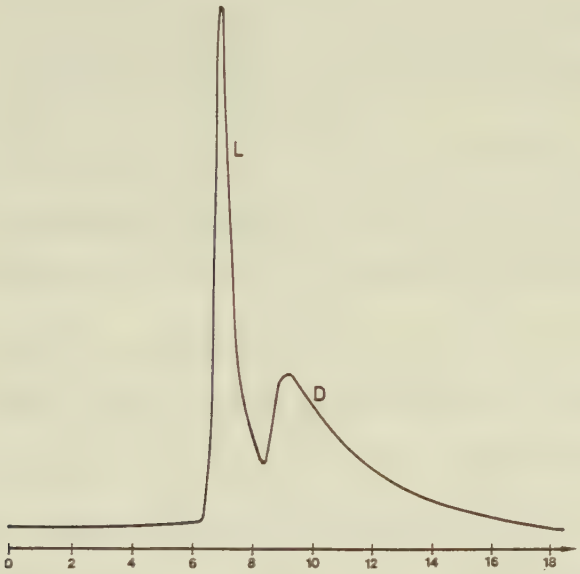


Abb. 10

Elutionsmittel: CH_3CN + 6% NH_4OH (25%ige Lösung) + 4% H_2O

Durchflußgeschwindigkeit: 0.02 ml/min, injezierte Menge: 10µl einer Lösung von 11 mg L-Phenylmannosid + 13 mg D-Phenylmannosid/ml H_2O

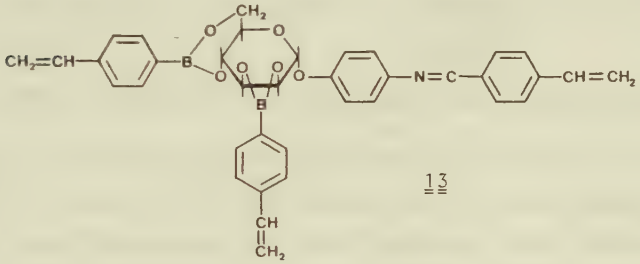
Insgesamt haben die hochdruckflüssigchromatographischen Untersuchungen gezeigt, daß an Kieselgelen, die nur mit einer dünnen Schicht des matrizenhaltigen Polymers überzogen sind, ebenso selektive Trennungen erhalten werden können, wie an hochvernetzten makroporösen organischen Polymeren mit chiralen Hohlräumen.

Kieselgelpolymere bieten den Vorteil hoher Druckstabilität und geringer Quellbarkeit, ferner können Kieselgele bereits in der gewünschten Korngröße zur Polymerisation eingesetzt werden (vorausgesetzt, die Polymerschicht wird nicht zu dick gewählt). Somit genügt bei Kieselgelpolymeren die Herstellung der jeweils zur Säulenfüllung benötigten Menge, während bei organischen Polymeren zunächst wesentlich mehr Material synthetisiert werden muß, da bei der Windsichtung nach der Polymerisation nur ein geringer Teil des Polymers in der gewünschten Korngröße anfällt. Ein Nachteil der Kieselgele ist ihre Alkaliempfindlichkeit, die jedoch mit zunehmender Polymerumhüllung geringer wird.

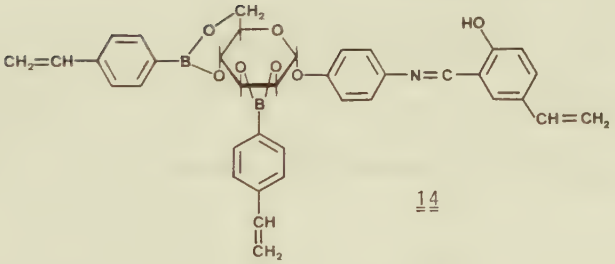
Sowohl an den früher untersuchten organischen Polymeren als auch an Kieselgelpolymeren verläuft der Massentransfer für schnelle chromatographische Trennungen noch zu langsam,da die Reaktion zwischen Boronsäurehaftgruppen und Mannosiden anscheinend einer großen sterischen Hinderung unterliegt. Die Ursache hierfür wird sowohl in der sperrigen Konfiguration der Mannoside liegen als auch in der geringen Flexibilität der polymergebundenen Boronsäuregruppen. Um den Beitrag beider Effekte abschätzen zu können, müßte zunächst die Geschwindigkeit der Gleichgewichtsreaktion zwischen Boronsäuren und Mannosiden im monomeren System untersucht werden. Darüberhinaus könnten Boronsäuregruppen, die über einen Spacer ans Polymergerüst gebunden werden, zeigen, inwieweit durch eine höhere Beweglichkeit der Haftgruppen der Massentransfer beschleunigt werden kann. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß sowohl die höhere Flexibilität der Haftgruppen, als auch der Einsatz eines weniger sperrigen Matrizenmoleküls die Prägung der Hohlräume verschlechtern wird. Es gilt deshalb, einen Kompromiß zu finden zwischen der Selektivität und der Geschwindigkeit der Reaktion am Polymer.

4. Untersuchungen zum Einfluß der Haftgruppenzahl auf den Trennfaktor

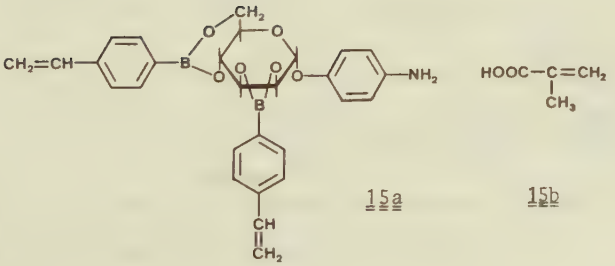
Ausgangspunkt für diese Untersuchungen waren Polymere mit 3 Haftgruppen, die aus den Matrizenmonomeren 13, 14, 15a und 15b und Comonomeren (Divinylbenzol bzw. Ethylenglycoldimethacrylat) in meiner Diplomarbeit hergestellt wurden.[40]



13



14



15a

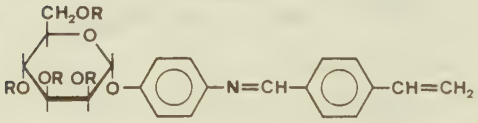
15b

Da ein Vergleich dieser Polymere mit drei Haftgruppen mit Polymeren, die nur über zwei Boronsäuregruppen verfügen, schwierig ist, sollte der Einfluß der dritten Haftgruppe separat getestet werden anhand von Polymeren, die ausschließlich die Aldehydfunktion als Haftgruppe enthalten.

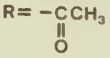
Die Verwendung trifunktioneller Matrizen hätte (neben einem eventuell verbesserten Trennfaktor) den Vorteil, daß über die dritte Haftfunktion eine direkte Bindung an Kieselgel hergestellt werden könnte.

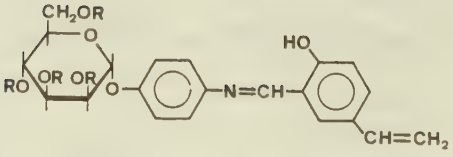
4.1. Polymere mit der Aldehydfunktion als einziger Haftgruppe

Für die Herstellung von Polymeren mit der Aldehydfunktion als einziger Haftgruppe wurden die Matrizenmonomeren 16 und 17 ausgewählt. Die in diesem Fall nicht zur Haftung benötigten OH-Gruppen am Zucker wurden durch Acetylierung geschützt.



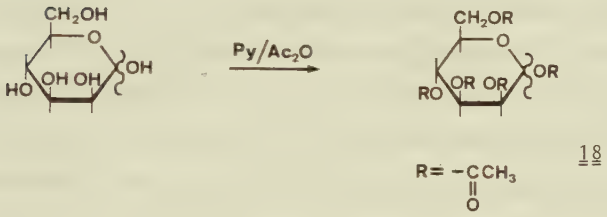
16



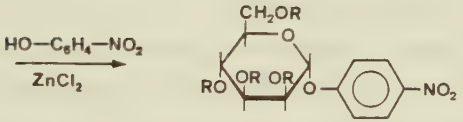


17

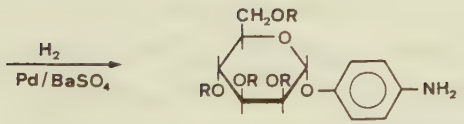
Zur Synthese der bisher nicht beschriebenen Verbindungen 16 und 17 wurde zunächst D-Mannose pentaacetyliert[72], mit p-Nitrophenol/$ZnCl_2$ umgesetzt[73, 75] und anschließend die Nitrogruppe katalytisch reduziert[95].



18



19



20

20 ist in diesem Fall die Matrize. Der optische Antipode von 20 wurde auf dem gleichen Weg ausgehend von L-Mannose[76] erhalten.

Die Umsetzung von 20 mit p-Vinylbenzaldehyd 21 führte zum Monomer 16, die entsprechende Umsetzung von 20 mit 5-Vinylsalicylaldehyd 22 [42] zum Monomer 17.

Aus 16 und 17 wurden unter Zusatz von EGDMA und dem Inertlösungsmittelgemisch Benzol/Acetonitril (1:1) makroporöse, hochvernetzte Polymere hergestellt.

Die Zusammensetzung der Monomermischungen ist aus Tab. 7 zu entnehmen. Aufgrund des hohen Inertlösungsmittelanteils, der zur Herstellung makroporöser Polymere erforderlich ist, wurden die Reaktionen in dickwandigen Glasampullen durchgeführt. Vor der Polymerisation wurde die Monomermischung sorgfältig von Sauerstoff befreit. Anschließend wurden die Ampullen in flüssigem Stickstoff abgekühlt und unter leichtem Vakuum zugeschmolzen. Die Dauer der Polymerisation betrug 3 Tage bei einer Temperatur von 70°C.

Nach Beendigung der Reaktion wurden die Ampullen aufgebrochen. Der spröde, kreidige Polymerblock wurde grob zerkleinert, getrocknet, fein gemahlen und gesiebt. Für die weiteren Untersuchungen fanden die Siebfraktionen von 45-125 µm Verwendung. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tab. 8 zusammengestellt.

Ebenso wie die Kieselgele wurden auch die Polymere zunächst mit Benzol und Acetonitril gewaschen, um nicht-einpolymerisiertes Monomer herauszulösen. Wie Drehwertmessungen im Filtrat zeigten, konnte ca. 1/4 der angebotenen Monomermenge nicht ins Polymer eingebaut werden. Dieser hohe Wert ist wahrscheinlich darin begründet, daß nur eine einzige Vinylgruppe zur Bindung des Matrizenmonomers an das Polymergerüst zur Verfügung stand.

Tab. 7 : Zusammensetzung der Polymerisationsansätze (Polymere mit 1 Haftgruppe)

Polymer	Gesamtzusammensetzung (g)	Zusammensetzung der Monomermischung (Gew.-%)		Volumen Inertlösungsmittel/g Monomermischung (ml)	
		Monomer (mmol/g)	EGDMA	Benzol	Acetonitril
P 1	0.30 Monomer 16 5.70 EGDMA 6.84 Inertlösungsm. 0.04 AIBN	5.0 (0.089)	95.0	0.97	0.36
P 2	0.43 Monomer 17 7.52 EGDMA 7.52 Inertlösungsm. 0.05 AIBN	5.4 (0.094)	94.6	0.54	0.60
P 3	0.35 Monomer 17 5.70 EGDMA 6.84 Inertlösungsm. 0.04 AIBN	5.8 (0.103)	94.2	0.97	0.36
P 4	0.50 Monomer 17 7.52 EGDMA 7.52 Inertlösungsm. 0.05 AIBN	6.2 (0.109)	93.8	0.53	0.60

Tab. 8 : Untersuchungsergebnisse der Polymere mit 1 Haftgruppe

Polymer	Zusammensetzung der Abspaltlösung (Vol.-%)	Abspaltrate (%)	Oberfläche (m^2/g)	Äquilibrierungsbedingung Nr. der Äquil.	Zusammensetzung der Äquilibrierungslösung (ml/40 mg Racemat)	Wiederaufnahme (%)	α
P 1	90 CH_3OH 10 HCl (0.1n)	55	391.4	E 1	40 CH_3CN 10 CH_3OH	0	1.00
P 1	90 CH_3OH 10 HCl (0.1n)	55		E 2	40 CH_3CN 10 CH_3OH 2 HCl (0.1n)	52	1.00
P 1	90 CH_3CN 10 HCl (0.1n)	60		E 3	40 CH_3CN 10 CH_3OH	58	1.00
P 1	90 CH_3CN 10 HCl (0.1n)	64		E 4	50 CH_3CN 0.65 CH_3SO_3H	-	-
P 2	90 CH_3CN 10 HCl (0.1n)	68	372.1	E 5	50 CH_3CN 0.20 CH_3SO_3H	-	-
P 1	90 CH_3CN 10 HCl (0.1n)	64		E 6	50 CH_3CN 0.25 CF_3COOH	56	1.00
P 2	90 CH_3CN 10 HCl (0.1n)	72		E 7	50 CH_3CN 0.25 CF_3COOH	61	1.00
P 3	90 CH_3CN 10 HCl (0.1n)	71	340.7	E 8	50 CH_3CN 0.5 CF_3COOH	50	1.00
P 4	90 CH_3CN 10 HCl (0.1n)	69	320.2	E 9	50 CH_3CN 0.25 CF_3COOH	57	1.00

Zur Abspaltung der Matrize ist bei schiffbasenhaltigen Polymeren ein Säurezusatz zur Abspaltlösung erforderlich, da die Hydrolyse von Schiff'schen Basen im Neutralen nur sehr langsam verläuft[96, 97]. Die zunächst als Abspaltlösung verwendete Mischung aus Methanol und 0.1 n HCl (10:1) erwies sich für die spätere Äquilibrierung als ungünstig. Mit dieser Abspaltlösung behandelte Polymere nahmen unter neutralen Äquilibrierungsbedingungen (Acetonitril/Methanol 4:1) keine Matrize wieder auf, obwohl die Bildung Schiff'scher Basen unter diesen Bedingungen möglich sein sollte[98]. Eine Erklärung für dieses Verhalten lieferte die NMR-spektroskopische Untersuchung von Benzaldehyd in deuterierter Abspaltlösung. Neben dem Aldehydsignal zeigte ein weiteres Signal bei δ = 5.4 ppm die Acetalisierung eines Teils der Aldehydgruppen durch die Methanol/HCl-Lösung an. Die Integration der Signale ergab, daß ca. ein Drittel der ursprünglichen Aldehydgruppen als Acetal vorlag. Diese Reaktion tritt sicherlich auch am Polymer auf und bewirkt, daß bei der Äquilibrierung nicht mehr genügend Aldehydgruppen zur Verfügung stehen, um die Matrize zu binden. Anders liegen die Verhältnisse, wenn in Gegenwart von Säure äquilibriert wird. In diesem Fall lagert das Polymer ca. 50% des angebotenen Racemats wieder ein. Die Ursache dafür liegt wahrscheinlich in der Reversibilität der Acetalbildung im Sauren. Dadurch kann ein Teil der acetalisierten Aldehydgruppen während der Äquilibrierung wieder freigesetzt werden und mit der Matrize zur Schiff'schen Base reagieren. Zur Vermeidung der Acetalbildung wurde bei allen folgenden Abspaltungen Methanol durch Acetonitril ersetzt. Ferner wurden die Abspaltungen unter Ausschluß von Sauerstoff durchgeführt, um eine Oxidation der Aldehydgruppen am Polymer zu vermeiden. Bei einem der aus 16 hergestellten Polymere, das an der Luft gehandhabt wurde, ergab die Titra-

tion mit NaOH, daß ca. 1/3 der Aldehydgruppen während der Abspaltung zu Carboxylgruppen oxidiert waren. Carboxylgruppen sind zwar ebenfalls in der Lage, Amine unter den Äquilibrierungsbedingungen über eine elektrostatische Wechselwirkung zu binden, diese Bindung ist jedoch ungerichtet und von daher als alleinige Haftgruppe nicht zur Selektion eines Antipoden geeignet.

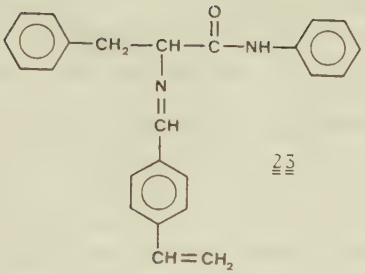
Die Abspaltung der Matrizen nahm bei schiffbasenhaltigen Polymeren wesentlich mehr Zeit in Anspruch als bei solchen, die nur Boronsäureester enthielten. Auch nach mehrtägiger Behandlung der Polymere mit Abspaltlösung wurde noch Matrize im Filtrat gefunden, die wahrscheinlich aus schwer zugänglichen Hohlräumen des Polymers stammte.

Nach der Abspaltung wurden alle Polymere säurefrei gewaschen und getrocknet.

Zur Äquilibrierung wurden jeweils 60% Racemat angeboten, bezogen auf die abgespaltene Menge an Matrize. Alle Polymere wurden für die Dauer von 3 Tagen unter den in Tab. 8 angegebenen Bedingungen gerührt.

Es zeigte sich, daß Polymere, die mit Acetonitril/0.1 n HCl (10:1) abgespalten worden waren, auch unter neutralen Bedingungen ca. 50% des angebotenen Racemats wieder aufnahmen. Allerdings war keine Bevorzugung für einen der Antipoden zu erkennen.

Diese mangelnde Selektivität der Polymere steht im Widerspruch zu Untersuchungen von W. Best[43], der das Matrizenmonomer 23 einpolymerisierte und bei der Äquilibrierung unter neutralen Bedingungen (Methanol+3% H_2O) einen Trennfaktor von α=1.24 fand.



23

In diesem Fall könnten jedoch zusätzlich zur Schiffbasenbindung noch π-π-Wechselwirkungen zwischen den Aromaten an der Matrize und den DVB-Einheiten am Polymer wirksam sein und zur Selektivität beitragen. A. Akelah[43] konnte an einem ähnlichen Polymer erst dann einen bevorzugten Einbau der Matrize beobachten, wenn die Äquilibrierung unter Zusatz von Säure durchgeführt wurde. Unter diesen Bedingungen war zumindest im Monomeren eine Gleichgewichtseinstellung des Systems

Aldehyd + Amin ⇌ Schiff'sche Base + H_2O

möglich.

Unter neutralen Bedingungen verläuft die Hydrolyse von Schiff'schen Basen so langsam, daß auch bei dreitägiger Äquilibrierungsdauer eine Gleichgewichtseinstellung nicht garantiert ist. Reagieren die Aldehydgruppen also zunächst relativ schnell und unselektiv mit beiden Antipoden, so ist im neutralen Äquilibrierungsmedium keine "Korrektur" mehr möglich und man erhält eine kinetische anstelle einer thermo-

dynamischen "Trennung".

Reversibel in einer für Batch-Versuche angemessenen Zeit wird die Reaktion erst bei Zusatz von Säure. Im allgemeinen liegt das Maximum der Hydrolysegeschwindigkeit bei Schiff'schen Basen im pH-Bereich von 2-5[96, 97].

Die für den vorliegenden Fall günstigsten Bedingungen zur Gleichgewichtseinstellung wurden zunächst im Monomeren ermittelt. Da 20 und die zugehörigen Schiff'schen Basen 16 und 17 weder in ihren Absorptionsspektren noch in ihren optischen Rotationen genügend differieren, wurde als Untersuchungsmethode die NMR-Spektroskopie gewählt. Die Signale von Aldehyden und Schiff'schen Basen sind gut unterscheidbar und getrennt zu integrieren. Nachteilig an dieser Methode ist, daß im NMR höhere Konzentrationen erforderlich sind als sie normalerweise in der Äquilibrierungslösung vorliegen.

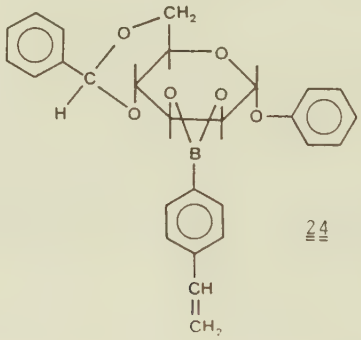
Das Gleichgewicht der Schiffbasenbildung wurde von beiden Seiten untersucht unter Zusatz verschiedener Mengen an Methansulfonsäure. Die Messungen zeigten, daß auch 24h nach dem Zusammengeben der Reaktionspartner zumindest im NMR-Rohr noch keine vollständige Gleichgewichtseinstellung erfolgt war. Nach dreitägiger Äquilibrierung sollte diese jedoch stattgefunden haben, wie Testversuche bei anderen Schiff'schen Basen ergeben hatten[99] .

Bei den Äquilibrierungen, die unter Zusatz von Methansulfonsäure durchgeführt wurden (E4, E5),blieben nach dem Abfiltrieren der Polymere blau-violett gefärbte Lösungen zurück, deren UV-spektroskopische Untersuchung keine sinnvollen Werte ergab. Die Erklärung für dieses Verhalten lieferte die dünnschichtchromatographische Überwachung der Matrize allein in der Äquilibrierungslösung während mehrerer Tage.

Eine mit der Zeit zunehmende Menge an freiem p-Nitrophenol (gelber Fleck auf der Dünnschicht) zeigte an, daß der Zusatz von Methansulfonsäure eine Spaltung der Glycosidbindung hervorruft.
Daraufhin wurde als schwächere Säure Trifluoressigsäure auf ihre Verwendung bei der Äquilibrierung hin getestet. Zunächst wurde dünnschichtchromatographisch die höchst mögliche Konzentration an Trifluoressigsäure ermittelt, die auch nach mehreren Tagen nicht zur Glycosidspaltung führte. Anschließend wurde im NMR überprüft, ob unter diesen Bedingungen eine Hydrolyse der Schiff'schen Base möglich ist. Bei erneuten Äquilibrierungsversuchen unter Zusatz von Trifluoressigsäure (E6-E9) wurde eine 50-60%ige Wiederaufnahme des Racemats durch das Polymer gefunden, jedoch keine merkliche Bevorzugung des ursprünglich eingebauten Antipoden. Möglicherweise wird ein sehr geringer Effekt dadurch überdeckt, daß auch nach sehr langer Abspaltzeit noch ein Rest der Matrize während der Äquilibrierung nachspaltet, wie aus den parallel durchgeführten Blindproben ersichtlich war. Im Filtrat der Blindprobe wurden immer positive Drehwerte gemessen, während das Filtrat der Probe die Drehung 0 zeigte. Subtrahiert man die Werte der Blindprobe von denen der Probe, so resultieren geringfügig negative Drehwerte für die Probe. Diese Werte lagen aber auch bei größeren Mengen an Polymer noch innerhalb der Fehlergrenze der Messung.
Eine Erklärung für die mangelnde Selektivität dieser Polymere könnte in der großen Entfernung zwischen Haftgruppe und optisch aktivem Zentrum liegen. Zwischen beiden befinden sich mehrere drehbare Bindungsachsen, sodaß unter Umständen auch der "falsche" Antipode eine

für den Hohlraum passende Konformation einnehmen kann.
Im Monomer 23 sind dagegen Haftgruppen und optisch aktives Zentrum eng benachbart. Außerdem können in diesem Fall, wie bereits erwähnt, noch zusätzliche Wechselwirkungen zur Selektivität beitragen.

Auch wenn die Aldehydfunktion als einzige Haftgruppe für einen bevorzugten Einbau der Matrize nicht ausreicht, könnte sie in Kombination mit weiteren Haftgruppen, z. B. mit zwei Boronsäuregruppen wie in den Monomeren 13 und 14, dazu beitragen, die Hohlraumprägung zu verbessern und damit den Trennfaktor α zu erhöhen. Zu dieser Vermutung geben u. a. neuere Untersuchungen an Polymeren aus dem Matrizenmonomer 24 Anlaß.



24

Diese Polymere verfügen ebenfalls nur über eine Haftgruppe und zeigten keine merkliche Selektivität[100]. Wird dagegen die Zahl der Boronsäurehaftgruppen auf zwei erhöht (Monomer 3), resultieren Polymere von hoher Selektivität.

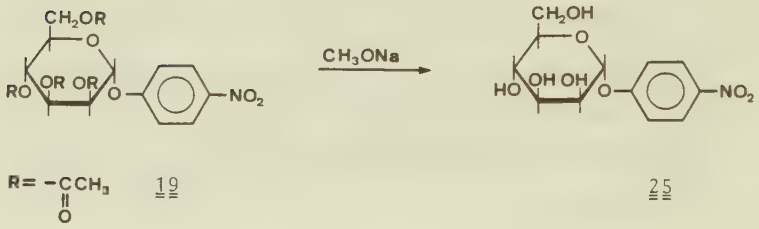
4.2. Polymer-modifizierte Kieselgele mit 3 Haftgruppen

Die Fixierung von Polymeren mit drei Haftgruppen auf Kieselgel wurde trotz des bisher nicht eindeutig nachgewiesenen Einflusses der dritten Haftgruppe aus folgenden Gründen angestrebt:

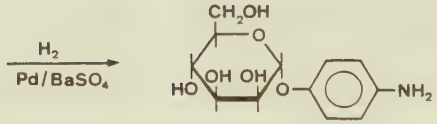
- Wie bereits in Kapitel 3.1. erläutert wurde, sollte über die zusätzliche Haftgruppe relativ gut eine direkte Fixierung des Matrizenmonomers auf Kieselgel vor der Polymerisation zu erreichen sein (Abb. 6). Außerdem könnten Monomere mit 3 Haftgruppen ebenso wie 3 erst während der Polymerisation an Kieselgel gebunden werden. Somit wäre ein Vergleich der beiden Methoden zur Modifizierung von Kieselgel mit Polymeren möglich.
- Gleichzeitig könnte an diesen Kieselgelpolymeren der Beitrag der Aldehydfunktion als zusätzliche Haftgruppe getestet werden. Dazu müßte ein Kieselgelpolymer, das zwei Boronsäurehaftgruppen und eine Aldehydhaftgruppe enthält, in parallelen Äquilibrierungsversuchen mit den Racematen des p-Aminophenylmannosids 7 und des Phenylmannosids 2 umgesetzt werden. Ein Mitwirken der Aldehydgruppe bei der Selektion des "richtigen" Antipoden müßte an höheren Trennfaktoren im Fall des Racemats von 7 zu erkennen sein.

Zunächst soll auf die Synthese der Matrizenmonomere und modifizierten Kieselgele eingegangen werden.
Für die Fixierung während der Polymerisation, wie sie mit 3 bereits durchgeführt wurde, sollten die trifunktionellen Monomere 13, 14 und 15 zum Einsatz kommen. Ihre Darstellung sei im folgenden kurz erläutert:

Ausgehend von 19 wurde durch Entacetylierung[75] und katalytische Reduktion[95] die Matrize 7 erhalten. Die Darstellung des optischen Antipoden erfolgte auf dem gleichen Wege, ausgehend vom L-Enantiomeren von 19.

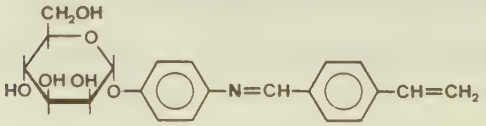


R= $-\overset{\overset{O}{\|}}{C}CH_3$ 19 25



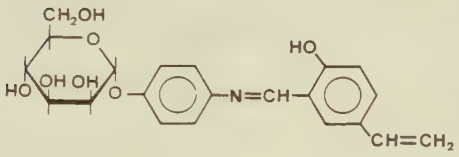
7

Monomer 13 wurde durch Kondensation von 7 mit p-Vinylbenzaldehyd 21 zur Schiff'schen Base 26 und Weiterumsetzung mit PVB erhalten:



26

Auf analoge Weise war aus 7 und 5-Vinylsalicylaldehyd 22 die Schiff'-sche Base 27 zugänglich, die mit PVB zum Monomer 14 reagierte.



27

Die Monomeren 13, 14, 15a und 15b wurden, wie in Kapitel 3.1. beschrieben, mit EGDMA und methacrylatmodifiziertem Kieselgel copolymerisiert. Die Polymerisationsansätze können aus Tabelle 9 entnommen werden.

Zur direkten Fixierung eines Monomers mit 3 Haftgruppen auf dem Kieselgel wurde aus den bereits geschilderten Gründen die Einführung einer -Si-Cl- oder-Si-OR-Funktion in den Aromaten der Schiff'-schen Base geplant, um über diese Haftgruppe die Bindung zum Kieselgel herzustellen.

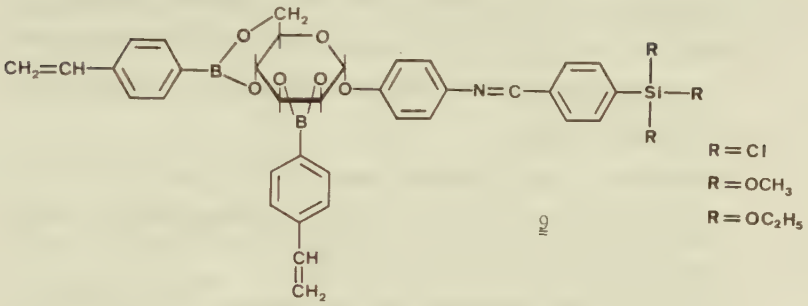
Tab. 9 : Zusammensetzung der Polymerisationsansätze (Kieselgelpolymere mit 3 Haftgruppen)

Kieselgelpolymer	Zusammensetzung der Monomermischung (g/g Kieselgel)			Monomerkonzentration ($\mu mol/m^2$ Kieselgel)	einpolymerisiertes Monomer	Polymerisationsbedingung
	EGDMA	MA	Matrizenmonomer			
K II 500 A	0.250	-	0.033	0.9	$\underline{\underline{14}}$	a
K II 500 B	0.125	-	0.017	0.45	$\underline{\underline{14}}$	a
K II 500 C	0.167	-	0.022	0.6	$\underline{\underline{14}}$	a
K I 500	0.120	-	0.020	0.6	$\underline{\underline{13}}$	a
K III 500	0.125	0.0023	0.013	0.5	$\underline{\underline{15}}$	a

a : Restlösungsmittelgehalt 0.8-1.2 g/g Kieselgel

MA: Methacrylsäure

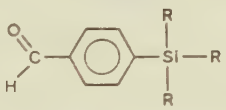
Bei der Synthese dieses neuen Monomers 9



R = Cl
R = OCH_3
R = OC_2H_5

9

bestand das Problem in der Herstellung des bisher noch nicht beschriebenen Aldehyds 8.



R = Cl
R = OCH_3
R = OC_2H_5

8

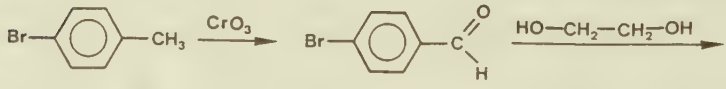
Eine Trichlor- oder Trialkoxysilylgruppe wird in einen Aromaten am besten über Grignardierung oder Lithiierung eingeführt.[101]

Dazu muß die Aldehydfunktion zunächst geschützt und anschließend wieder freigesetzt werden. Zur Abspaltung der Schutzgruppe ist in jedem Fall ein Zusatz von Wasser und/oder Säure erforderlich, der gleichzeitig eine Hydrolyse der Chlor- oder Alkoxysilylgruppen hervorrufen kann. Auch bei umgekehrter Einführung der Substituenten ist bei allen gebräuchlichen Verfahren der Kontakt mit Wasser oder Säure nicht zu vermeiden.

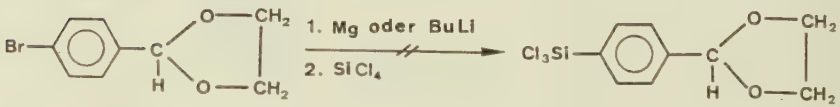
Darüberhinaus ist die Stabilität von 8 fraglich; zumindest im Fall von Trichlorsilylsubstituenten wird eine sofortige Reaktion dieser Gruppe mit der Aldehydfunktion eintreten.

Aus diesen Gründen erschien es weitaus günstiger, die Aldehydgruppen erst dann zu erzeugen bzw. freizusetzen, wenn das betreffende Derivat von 8 bereits an Kieselgel gebunden ist.

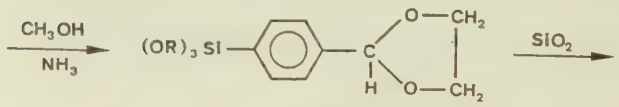
Der zunächst gewählte Weg zur Herstellung eines kieselgelgebundenen Aldehyds war folgender:



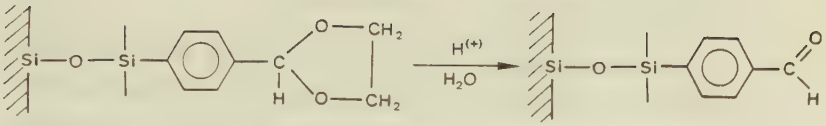
28 29



30 31



32

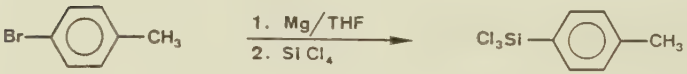


Zunächst wurde p-Bromtoluol 28 zum Aldehyd 29 oxidiert[102] und als Dioxolan 30 geschützt[103]. Diese Schutzgruppe ist im allgemeinen gegenüber Grignard- und Lithiumverbindungen stabil[104, 105]. Aus 30 sollten die entsprechenden Mg- bzw. Li-Derivate hergestellt und zu einer Lösung von $SiCl_4$ in Ether getropft werden. Diese etwas ungewöhnliche Reaktionsführung ist erforderlich, weil ein Überschuß der Mg- oder Li-Verbindung im Reaktionsgemisch Mehrfachsubstitutionen am $SiCl_4$ hervorruft. Das Trichlorsilylderivat 31 könnte direkt an Kieselgel gebunden werden oder zunächst durch Umsetzung mit Methanol in Gegenwart einer Base in das weniger hydrolyseempfindliche Produkt 32 überführt werden. Prinzipiell ist es auch möglich, die Trialkoxysilylgruppe direkt in den Aromaten einzuführen. Da Tetraalkoxysilan aber reaktionsträger ist als Siliciumtetrachlorid, ist meist der Umweg über die Trichlorsilylgruppe zu bevorzugen[106]. Tetraalkoxysilan zeigte auch mit den Grignard- bzw. Lithiumverbindungen von 30 kaum eine Umsetzung. Mit $SiCl_4$ trat eine Reaktion ein, das gewünschte Produkt 31 entstand jedoch nicht.

NMR-spektroskopische Untersuchungen des komplexen Reaktionsgemisches deuten darauf hin, daß in diesem Fall der Dioxolanring nicht ausreichend stabil war.

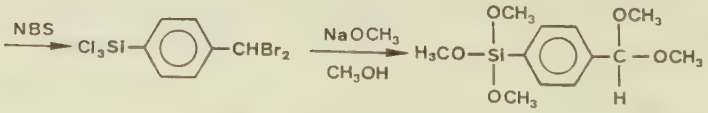
Es wurde deshalb eine andere Methode zur Synthese eines geschützten Aldehyds, der auf Kieselgel fixiert werden kann, ausgearbeitet.

Das Ausgangsprodukt war wiederum 28, in das durch Grignardreaktion und Umsetzung mit $SiCl_4$ in der oben beschriebenen Weise die Trichlorsilylgruppe eingeführt wurde[107].



28 35

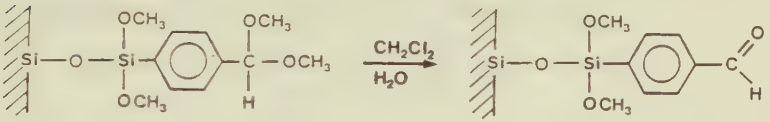
35 wurde einer doppelten NBS-Bromierung unterworfen und ergab das bisher noch nicht beschriebene Produkt 36. Die sehr hydrolyseempfindliche Verbindung 36 wurde durch Umsetzung mit Natriummethanolat in Methanol in das stabilere ebenfalls noch nicht beschriebene Produkt 37 überführt.



36 37

Der letzte Schritt verläuft nicht immer problemlos, da die Reaktion wahrscheinlich stark pH-abhängig ist.

Insgesamt ist auf diesem Weg relativ einfach ein geschützter Aldehyd zugänglich, der auf Kieselgel aufgezogen werden kann (38). Ein großer Vorteil von 38 ist darüberhinaus, daß die Aldehydgruppe unter sehr milden Bedingungen freigesetzt werden kann (einstündiges Rühren bei Raumtemperatur in wasserhaltigem CH_2Cl_2).

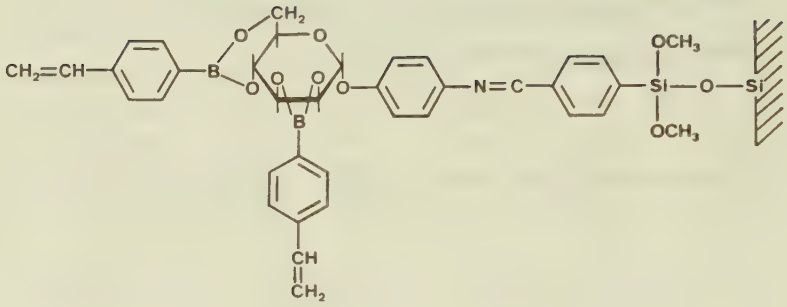


38 34

Gleichzeitig mit dem Acetal 37 kann das zur späteren Fixierung des Polymers erforderliche Methacrylatderivat 5 auf Kieselgel gebunden werden. Unter den genannten milden Bedingungen zur Abspaltung der Schutzgruppe am Aldehyd besteht keine Gefahr, daß in 5 die Esterbindung gespalten wird oder eine vorzeitige Polymerisation eintritt. 5 und 37 wurden in gleichen molaren Mengen einer Kieselgelsuspension in CCl_4 zugesetzt. Aus dem %-C-Gehalt des modifizierten Kieselgels wurde nach Formel (6) die Gesamtbelegung berechnet. Unter der Annahme, daß 5 und 37 auch zu gleichen Teilen an Kieselgel gebunden werden, wurde für K III 500 B eine Belegung von 0.6 µmol/m^2 errechnet. Nach der Freisetzung des Aldehyds wurde das modifizierte Kieselgel 34 mit einer Lösung des Matrizenmonomers 15a in Benzol versetzt.

15a

34 ⟶



Aus der Drehwertdifferenz der Benzollösung vor und nach der Umsetzung mit Kieselgel konnte auf die Menge an gebundenem Monomer 15a und damit auf die Anzahl der Aldehydgruppen auf dem Kieselgel geschlossen werden. An K III 500 B wurden 21 mg von 15a pro g Kieselgel gebunden. Das entspricht einer Belegung von 0.2 µmol/m^2. Dieser Wert korreliert recht gut mit der oben errechneten Gesamtbelegung. Demnach konnte aus einem Großteil der fixierten Acetale die Aldehydgruppe freigesetzt werden und mit 15a reagieren.

Die nach dieser Methode modifizierten Kieselgele wurden, ebenso wie bisher beschrieben, unter Zusatz von EGDMA, AIBN und etwas Inertlösungsmittel polymerisiert. Die Polymerisationsansätze sind in Tab. 10 aufgeführt.

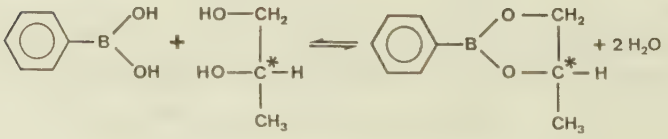
Da die Abspalt- und Äquilibrierungsbedingungen für die in den Tabellen 9 und 10 aufgeführten Polymere identisch sind, wird die Untersuchung der Polymere im folgenden gemeinsam behandelt.

Tab. 10 : Zusammensetzung der Polymerisationsansätze (Kieselgelpolymere mit direkt gebundenem Monomer)

Kieselgelpolymer	Zusammensetzung der Monomermischung (g/g Kieselgel)		Monomerkonzentration ($\mu mol/m^2$ Kieselgel)	Polymerisationsbedingung
	EGDMA	Monomer 15a		
K III 500 B	0.179	0.021	0.20	a
K III 500 D	0.120	0.016	0.15	a
K III 500 E	0.276	0.055	0.50	a

Alle Kieselgele wurden nach der Polymerisation mit Benzol und Acetonitril gewaschen. Das Filtrat enthielt jeweils weniger als 5% an nicht-einpolymerisiertem Monomer.
Zur Abspaltung diente, wie auch bei den Polymeren, die ausschließlich die Schiffbasenfunktion enthielten, eine Lösung aus Acetonitril/ 0.1 n HCl (10:1). Auch die Dauer der Abspaltung war etwa gleich.

Die Äquilibrierungen wurden sowohl im neutralen als auch im sauren Medium durchgeführt, wobei mehrfach parallele Versuche mit p-Aminophenylmannosid und Phenylmannosid als Racemat gemacht wurden.
Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Tab. 11 und 12 zusammengefaßt.
Bei diesen Kieselgelpolymeren sollten die Äquilibrierungsbedingungen so gewählt werden, daß sowohl die Boronester- als auch die Schiffbasenbindung mit genügender Geschwindigkeit reversibel ist.
Der dazu nötige Zusatz an Säure und Wasser wurde zunächst am monomeren System studiert. Als Äquilibrierungslösung wurde Acetonitril gewählt. Ein Methanolzusatz ist in Gegenwart von Säure wegen der Gefahr der Acetalbildung ungünstig. Bedingungen, unter denen die Schiffbasenbildung reversibel ist, wurden schon bei den in Kapitel 4.1. geschilderten Untersuchungen ermittelt. Für eine reversible Boronesterbildung in Acetonitril ist ein Zusatz von Wasser nötig. Die notwendige Wassermenge für einen ca. 50%igen Umsatz wurde anhand der Reaktion (14)



(14)

Tab. 11 : Untersuchungsergebnisse der Kieselgelpolymere mit 3 Haftgruppen

Kieselgelpolymer	Oberfläche (m^2/g)	Abspaltrate (%)	Zusammensetzung der Äquilibrierungslösung (ml/25 mg Racemat)	Wiederaufnahme (%) APM	Wiederaufnahme (%) PM	α APM	α PM
K II 500 A	163.8	88	40 CH_3CN 10 CH_3OH 2 HCl (0.1n)	80	-	2.16	-
K II 500 B	152.0	73	40 CH_3CN 10 CH_3OH	94	46	2.85	1.36
			50 CH_3CN 1 H_2O 0.25 CF_3COOH	46	45	1.34	1.33
K II 500 C	140.5	75	40 CH_3CN 10 CH_3OH	96	75	3.14	2.03
			50 CH_3CN 1 H_2O 0.5 CF_3COOH	68	65	1.96	1.68
K I 500	129.5	71	50 CH_3CN 1 H_2O 0.25 CF_3COOH	46	41	1.09	1.10
K III 500	122.4	82	40 CH_3CN 10 CH_3OH	80	42	2.71	2.27

Racemate: D,L-p-Aminophenylmannosid (APM)
D,L-Phenylmannosid (PM)

Tab. 12 : Untersuchungsergebnisse der Kieselgelpolymere mit direkt gebundenem Monomer

Kieselgelpolymer	Oberfläche (m^2/g)	Abspaltrate (%)	Zusammensetzung der Äqilibrierungslösung (ml/25 mg Racemat)	Wiederaufnahme (%)	α
K III 500 B	161.3	71	40 CH_3CN 10 CH_3OH	90	1.31
K III 500 D	131.5	82	40 CH_3CN 10 CH_3OH	88	1.41
K II 500 E	187.9	67	40 CH_3CN 10 CH_3OH	90	1.00

Racemat: D,L-p-Aminophenylmannosid

polarimetrisch bestimmt. Es zeigte sich, daß das Gleichgewicht (11) nur wenig von der Säuremenge abhängt und umgekehrt das Gleichgewicht der Schiffbasenbildung und -hydrolyse gegenüber Änderungen im Wassergehalt relativ unempfindlich ist.
Das Resultat dieser Untersuchungen sind die in Tab 8 angegebenen sauren Äquilibrierungsbedingungen, die zumindest im monomeren System die Einstellung beider Gleichgewichte ermöglichen.
Bei einer dreitägigen Äquilibrierungszeit ist zu erwarten, daß auch am Polymer die Gleichgewichtseinstellung erfolgen kann.
Die unter sauren Äquilibrierungsbedingungen gemessenen α-Werte zeigen keine signifikante Abhängigkeit von der Anzahl der Bindungsmöglichkeiten zwischen Polymer und Matrize. Demnach leistet die Aldehydfunktion auch als zusätzliche Haftgruppe keinen Beitrag zur Selektivität.

Ein anderes Ergebnis brachten Äquilibrierungen im neutralen Medium (Acetonitril/Methanol 4:1) . Unter diesen Bedingungen wurden für das Racemat der trifunktionellen Matrize 7 höhere Trennfaktoren erhalten als für das der bifunktionellen Matrize 2. 7 wurde fast vollständig vom Polymer aufgenommen. In der oben genannten Äquilibrierungslösung ist die Schiffbasenbildung so wenig reversibel, daß wahrscheinlich auch nach dreitägiger Äquilibrierung keine echte Gleichgewichtseinstellung stattgefunden hat.

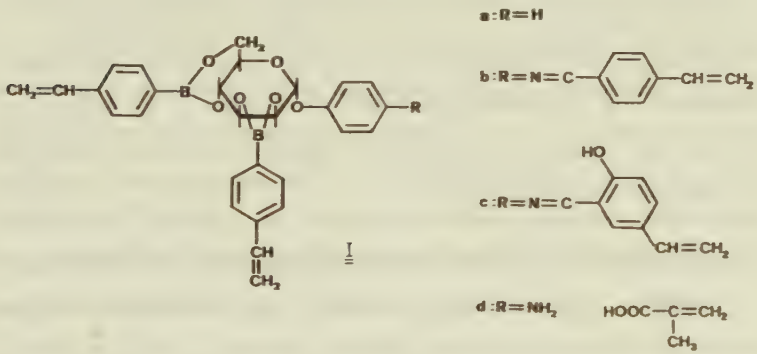
Trägermaterialien mit der Aldehydfunktion als zusätzlicher Haftgruppe sind damit vorteilhaft, wenn eine selektive Trennung mit weitgehend irreversibler Bindung der abzutrennenden Komponente angestrebt wird wie bei der klassischen Affinitätschromatographie.
Unter reversiblen Reaktionsbedingungen, d.h. für eine kontinuierliche Chromatographie bringt die Aldehydfunktion keine Verbesserung der

Selektivität, sondern noch eine zusätzliche Verlangsamung des Massentransfers, da die Gleichgewichtseinstellung zwischen Aldehydgruppen und Aminen auch im Sauren mit geringerer Geschwindigkeit abläuft als die reversible Reaktion zwischen Boronsäurehaftgruppen und Diolen bzw. Polyolen.

Für die Fixierung des matrizenhaltigen Polymers auf Kieselgel bot die zusätzliche Aldehydhaftgruppe eine gute Möglichkeit, das Matrizenmonomer bereits vor der Polymerisation an Kieselgel zu binden. Auch die nach dieser Methode hergestellten Polymere zeigten eine Bevorzugung für den ursprünglich eingebauten Antipoden. Die Trennfaktoren liegen bisher noch relativ niedrig, verglichen mit den übrigen Kieselgelpolymeren. Durch Optimierungsversuche wäre vermutlich noch eine Steigerung der Selektivität möglich. Es stehen damit 2 Verfahren zur Verfügung, eine matrizenhaltige Polymerschicht auf der Kieselgeloberfläche aufzubringen und damit selektive Trägermaterialien herzustellen.

III. Zusammenfassung

Einer schnellen chromatographischen Racemattrennung an Polymeren mit chiralen Hohlräumen stand bisher eine zu geringe Auflösung, bedingt durch große Peakbreiten, entgegen. Aufgrund vorangegangener Untersuchungen wurde die Hauptursache für die starke Peakverbreiterung in einer zu geringen Diffusionsgeschwindigkeit der zu trennenden Substanzen innerhalb des polymeren Netzwerks vermutet. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb die Entwicklung von Trägermaterialien, die eine weitgehend ungehinderte Diffusion ermöglichen. Dazu wurden großporige Kieselgele (500 und 1000 Å Porenweite) mit Methacrylatgruppen modifiziert und anschließend durch Copolymerisation mit Ia und Ethylenglycoldimethacrylat (EGDMA)

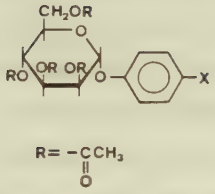


I

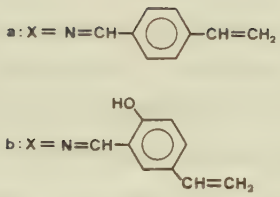
mit einer dünnen Schicht matrizenhaltigen Polymers bedeckt. Nach Abspaltung der Matrize α-D-Phenylmannosid bleiben in der Polymerschicht geprägte Hohlräume zurück, in die Boronsäurehaftgruppen hineinragen. Aufgrund der geringen Dicke der Polymerschicht und der großen Porenweite des Kieselgels sollte eine gute Zugänglichkeit der Hohlräume

gegeben sein. Nach Optimierung von Herstellung und Zusammensetzung derartiger Kieselgele anhand von Batchversuchen wurden diese Kieselgelpolymere als Trägermaterialien in der Hochdruckflüssigchromatographie getestet. Das Racemat der Matrize konnte an diesen Trägern weitgehend getrennt werden, allerdings wurden noch immer beide Enantiomeren als breite Peaks eluiert. Dieser Effekt wurde sogar an Kieselgelen beobachtet, deren Boronsäurehaftgruppen nicht von einer Polymerschicht bedeckt waren (Herstellung ohne EGDMA). Damit konnte gezeigt werden, daß die Diffusionsgeschwindigkeit der Enantiomeren durch das Polymergerüst nicht die wesentliche Ursache für die starke Peakverbreiterung darstellt. Die Geschwindigkeit des Massenaustauschs in der stationären Phase muß damit von der Reaktionsgeschwindigkeit zwischen Racemat und Haftgruppen kontrolliert werden. Die Tatsache, daß Phenylglycol jeweils als schmaler Peak eluiert wurde, deutet auf eine sterische Hinderung bei der Gleichgewichtseinstellung zwischen Boronsäure und Mannosiden hin. Eine Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Boronesterbildung und -hydrolyse vom sterischen Anspruch des Alkohols wurde auch in anderen Fällen beobachtet.

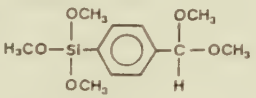
Desweiteren wurde in dieser Arbeit eine Möglichkeit zur Steigerung des Trennfaktors α untersucht, da durch höhere α-Werte ebenfalls eine verbesserte Auflösung resultiert. Einen Ansatzpunkt zur Steigerung von α bot die Erhöhung der Haftgruppenzahl zwischen Polymer und Matrize, zu erreichen durch Verwendung von Ib, Ic oder Id + Methacrylsäure als Matrizenmonomere anstelle der bisher eingesetzten Verbindung Ia. Der Einfluß der Aldehyd- bzw. Carboxylfunktion als Haftgruppe wurde zunächst separat getestet anhand von Polymeren aus den bisher noch nicht beschriebenen Matrizenmonomeren IIa oder IIb und EGDMA als Comonomer.



II



Nach Abspaltung der Matrize zeigten diese Polymere in Äquilibrierungsversuchen mit dem Racemat der Matrize keine Selektivität. Zur Prüfung, ob die Aldehyd- bzw. Carboxylfunktion als zusätzliche Haftgruppe den Trennfaktor verbessern kann, wurden Kieselgelpolymere aus den trifunktionellen Matrizenmonomeren Ib, Ic und Id + Methacrylsäure hergestellt. Parallele Äquilibrierungen dieser Polymere einmal mit dem Racemat der trifunktionellen Matrize, zum anderen mit dem Racemat des Phenylmannosids lieferten in beiden Fällen fast identische Trennfaktoren. Ein Mitwirken der Aldehydfunktion bei der Selektion des ursprünglich eingebauten Antipoden wurde nur unter Bedingungen beobachtet, unter denen keine Gleichgewichtseinstellung bei der Schiffbasenbildung möglich war.
Anhand von trifunktionellen Matrizenmonomeren wurde eine weitere Methode zur Fixierung von Polymerschichten auf Kieselgel untersucht. Dazu wurde die bisher nicht beschriebene Verbindung III



III

auf Kieselgel gebunden, in den Aldehyd überführt und mit Id umgesetzt. Durch Copolymerisation mit EGDMA konnten auch auf diesem Weg spezifische Kieselgelpolymere erhalten werden.

Damit wurden zwei Möglichkeiten zur Herstellung dünner Polymerschichten mit chiralen Hohlräumen auf einem Kieselgelträger aufgezeigt. Die Vorteile Polymer-modifizierter Kieselgele als Trägermaterialien sind hohe Druckstabilität, geringe Quellbarkeit, geringer Substanzverlust bei der Herstellung (zur Polymerisation kann bereits die gewünschte Korngröße eingesetzt werden, damit entfällt die Windsichtung), weiterhin ist eine gute Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen gegeben. Ein Nachteil ist die Alkaliempfindlichkeit des Kieselgels, die allerdings mit zunehmender Polymerschichtdicke abnimmt. Insgesamt stellen Polymer-modifizierte Kieselgele geeignete Trägermaterialien für Racemattrennungen nach dem Prinzip der Affinitätschromatographie dar. Für einen schnellen, kontinuierlichen chromatographischen Prozeß muß die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung zwischen Haftgruppen und zu trennenden Substanzen noch erhöht werden.

IV. Experimenteller Teil

1. Apparatives

Kernresonanzspektroskopie	: ^{1}H: EM 390 Varian (+34°C) ^{13}C: Varian XL 100 (+32°C) jeweils TMS als interner Standard
UV-Spektroskopie	: Perkin Elmer Typ 554
Polarimetrie	: Perkin Elmer Typ 241, 1 dm-Zelle
pH-Meter	: Potentiograph E 536, Metrohm Merisau
Hydrierung	: Laborautoklav 71-500, Fa. F. Berghoff GmbH
Schmelzpunktbestimmung	: Schmelzpunktgerät 510 Fa. Büchi bzw. Mikroskopheiztisch nach Kofler-Weygang (Modell 350, Leitz)
Rektifikation	: Fischer Spaltrohrsystem
Oberflächenbestimmung	: Areameter II, Fa. Ströhlein, Düsseldorf
Elementaranalysen	: Pharmazeutisches Institut der Universität Düsseldorf
Dünnschichtchromatographie	: Fertigplatten Kieselgel 60 F 254 (Merck)
Windsichter	: Alpine AG Typ 100 MZR

2. Lösungsmittel und Ausgangssubstanzen

Die verwendeten Lösungsmittel wurden durch Destillation vorgereinigt und, falls erforderlich, nach den üblichen Methoden nachgereinigt und getrocknet. Die getrockneten Lösungsmittel wurden über Molekularsieb aufbewahrt.

Folgende Ausgangssubstanzen wurden eingesetzt:

Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm) 70 - 230 mesh ASTM (Merck);
Kieselgel 100 (0.063-0.2 mm) 70 - 230 mesh ASTM (Merck);
Kieselgel 500 weitporig (Merck); Kieselgel 1000 weitporig (Merck);
4-Bromtoluol (Merck); 4-Nitrophenol (Janssen); Phenol p. A. (Merck);
$ZnCl_2$ (Ferak); Acetonitril (Janssen); Palladiumkatalysator (10% $Pd/BaSO_4$);
1, 1, 1, 3, 3, 3-Hexamethyldisilazan (Janssen);
3-(Trimethoxysilyl)-propyl-methacrylat (Janssen); D-Mannose (Merck);
n-Butyllithium, 1.7 M Lösung (Aldrich); Methacrylsäure (Merck);
Ethylenglycoldimethacrylat (Merck).

Die Monomeren wurden vor der Verwendung destillativ vom Inhibitor befreit.

3. Herstellung der Monomeren

3.1 Darstellung der Matrizenmoleküle und ihrer optischen Antipoden

α-D-Phenylmannopyranosid 2 , α-L-Phenylmannopyranosid

Zur Darstellung von 2 wurde D-Mannose pentaacetyliert[72], mit Phenol/$ZnCl_2$ nach Helferich zu Phenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-D-mannopyranosid umgesetzt[73, 75] und anschließend entacetyliert[75]. Entsprechend wurde der optische Antipode von 2 ausgehend von L-Mannose erhalten[76].

p-Aminophenyl-α-D-mannopyranosid 7 , p-Aminophenyl-α-L-mannopyranosid

Zur Synthese von 7 wurde D-Mannosepentaacetat[72] zunächst mit p-Nitrophenol/$ZnCl_2$ zum p-Nitrophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-D-mannopyranosid 19 umgesetzt[73, 75]. Nach Entacetylierung erhielt man p-Nitrophenyl-α-D-mannopyranosid 25[75]. 25 wurde nach O. Westphal und H. Freier[95] durch katalytische Reduktion in das Produkt 7 überführt.

$[\alpha]_D^{20}$ = + 130.2 (c = 0.5 in Methanol) (Lit[95] + 128.4 in Methanol)
Schmp. 164°C (Lit[95] + 164°C)
^{1}H-NMR (CD_3OD) : δ = 3.3 (s; 2H, NH_2), 3.6-4.0 (m; 4H, OH), 4.78 (s; 6H, H-2 bis H-6 am Zucker), 5.28 (s; H-1 am Zucker), 6.60-6.95 (dd; 4H, Aromaten-H).

Der optische Antipode von 7 wurde auf dem gleichen Weg, ausgehend von L-Mannosepentaacetat erhalten.

$[\alpha]_D^{20}$ = - 128.5 (c = 0.5 in Methanol)
Schmp. 163°C

$C_{12}H_{17}NO_6$ (271.3) Ber. C 53.13 H 6.32 N 5.16

Gef. C 52.87 H 6.65 N 5.14

p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-D-mannopyranosid 20

p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-L-mannopyranosid

Zur Darstellung von 20 wurden 1.8 g (3.8 mmol) 19 mit 0.8 g $Pd/BaSO_4$ in 20 ml wasserfreiem Ethanol 3 h bei 1 at hydriert. Nach der Reaktion wurde der Katalysator über eine G-5-Fritte unter Stickstoff abfiltriert und das Filtrat bis zum Auskristallisieren des Produktes eingeengt. Es entstehen weiße Nadeln, die aus Ethanol unter Stickstoff umkristallisiert werden können.

Ausbeute 1.27 g (75%)

Schmp. 51°C

$[\alpha]_D^{20} = +75.1$ (c = 0.51 in Methanol)

$C_{20}H_{25}NO_{10}$ (439.4) Ber. C 54.67 H 5.74 N 3.19

Gef. C 54.27 H 5.70 N 3.21

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : δ = 2.0, 2.15 (s; 12H, $-CH_3$), 3.5 (s; 2H, NH_2), 4.0-4.3 (m; 3H, Zuckerprotonen), 5.3-5.6 (m; 4H, Zuckerprotonen), 6.7-6.9 (dd; 4H, Aromaten-H). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) : 20.63, 20.80 (q; 4C, $-CH_3$), 62.20 (t; C-6 am Zucker), 66.04 (d; C-4 am Zucker), 68.91 (d; 2C, C-2, 3 am Zucker), 69.47 (d; C-5 am Zucker), 96.72 (d; C-1 am Zucker), 116.06, 117.91, 141.65, 148.49 (6C, Aromaten-C), 169.50-170.28 (4C, $-C(O)CH_3$).

Zuordnung der Zucker-C-Atome nach Literatur [108, 109].

p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-L-mannopyranosid

$[\alpha]_D^{20} = -74.8$ (c = 0.5 in Methanol)

Schmp. 51°C Ber. C 54.67 H 5.74 N 3.19

Gef. C 54.37 H 6.06 N 2.99

3.2 Darstellung der Schiff'schen Basen

Allgemeine Arbeitsvorschrift

10 mmol des jeweiligen p-Aminophenylmannosidderivats wurden in 30 ml wasserfreiem Methanol gelöst und mit 11 mmol des Aldehyds versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei die schwerlöslichen Schiffbasen 26 und 27 ausfielen. Sie wurden abfiltriert und mit Ether gewaschen.

Bei der Darstellung der leichter löslichen Schiff'schen Basen 16 und 17 wurde die Reaktionslösung eingeengt, bis die Produkte auskristallisierten. Es wurde abfiltriert und mit Petrolether nachgewaschen. Fallen die Schiff'schen Basen zunächst als Sirup an, so können sie aus Ether kristallin erhalten werden.

N-(4-Vinylbenzyliden)-p-aminophenyl-α-D-mannopyranosid 26

Zur Darstellung von 26 wurden 2.7 g (10 mmol) p-Aminophenyl-α-D-mannosid 7 und 1.9 g (11 mmol) 4-Vinylbenzaldehyd 21[43, 74] zur Reaktion gebracht. Das Produkt ist in fast allen Lösungsmitteln schwer löslich (Ausnahme DMSO).

gelbliche Nadeln

Ausbeute 3.55 g (91%)

Schmp. 214°C

$[\alpha]_D^{25}$ = + 125.0 (c = 0.5 in DMSO)

$C_{21}H_{23}NO_6$ (385.4) Ber. C 65.44 H 6.01 N 3.63

Gef. C 65.49 H 6.19 N 3.73

^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ = 3.3-3.9 (m; 4H, OH am Zucker), 4.2-5.0 (m; 5H, H-2 bis H-6 am Zucker), 5.4 (s; H-1 am Zucker). AMX-Spektrum der Vinylprotonen: 5.36 (d; J_{AX} = 12 Hz; H_A), 5.93 (d; J_{MX} = 18 Hz; H_M), 6.80 (dd; H_X), 7.1-7.9 (m; 8H, Aromaten-H), 8.58 (s; -N=C-H).

^{13}C-NMR (DMSO-d_6): δ = 60.97 (t; C-6 am Zucker), 66.64 (d; C-4 am Zucker), 69.98 (d; C-3 am Zucker), 70.59 (d; C-2 am Zucker), 74.76 (d; C-5 am Zucker), 98.98 (d; C-1 am Zucker), 115.74 (t; -C=CH_2), 117.24, 122.0, 126.23, 128.53 (4d; 8C, Aromaten-C), 135.46 (d; -C=CH_2), 135.86, 139.44, 145.13, 154.75 (4s; 4C, Aromaten-C), 158.06 (d; -C=N-).

N-(5-Vinylsalicyliden)-p-aminophenyl-α-D-mannopyranosid 27

27 wurde aus 2.7 g (10 mmol) p-Aminophenyl-α-D-mannosid 7 und 1.6 g (11 mmol) 5-Vinylsalicylaldehyd[42, 55] hergestellt.

orange-gelbe Nadeln

Ausbeute 3.40 g (85%)

Schmp. 172-174°C

$[\alpha]_D^{20}$ = + 115.5 (c = 0.2 in DMSO)

$C_{21}H_{33}NO_7$ (401.4) Ber. C 62.84 H 5.78 N 3.49

Gef. C 62.99 H 5.82 N 3.48

^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ = 3.3-3.9 (m; 4H, OH am Zucker), 4.3-5.0 (m; 6H, H-2 bis H-6 am Zucker), 5.38 (s; H-1 am Zucker), AMX-Spektrum der Vinylprotonen: 5.15 (d; J_{AX} = 10.5 Hz, H_A), 5.66 (d; J_{MX} = 16.5 Hz, H_M), 7.67 (dd; H_X), 6.8-7.7 (m; 3H, Aromaten-H), 8.88 (s; -N=-CH).

^{13}C-NMR (DMSO-d_6): δ = 60.94 (t; C-6 am Zucker), 66.63 (d; C-4 am Zucker), 69.92 (d; C-3 am Zucker), 70.60 (d; C-2 am Zucker), 74.82 (d; C-5 am Zucker), 98.87 (d; C-1 am Zucker), 111.85 (t; -C=$\underline{C}H_2$), 116.63, 117.37, 118.94, 122.27, 128.23 129.87, 130.21 (9C, Aromaten-C), 135.37 (d; -$\underline{C}$=CH_2), 141.61 155.32, 159.80 (3C, Aromaten-C), 161.28 (d; -$\underline{C}$=N-).

N-(4-Vinylbenzyliden)-p-aminophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-D-mannopyranosid 16

Zur Darstellung von 16 wurden 1.5 g (3.4 mmol) p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-D-mannosid 20 in der gerade erforderlichen Menge wasserfreien Ethanols gelöst und mit 0.5 g (3.8 mmol) frisch destilliertem p-Vinylbenzaldehyd[43, 74] versetzt.

gelbe Kristalle

Ausbeute 1.55 g (81%)

Schmp. 103-105°C

$[\alpha]_D^{20}$ = + 84.3 (c = 1 in Benzol)

$C_{29}H_{31}NO_{10}$ (559.6) Ber. C 62.92 H 5.65 N 2.53

Gef. C 62.98 H 5.97 N 2.51

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 2.0, 2.18 (2s; 12H, $\underline{C}H_3$), 4.0-4.4 (m; 6H, H-2 bis H-6 am Zucker), 5.53 (s; H-1 am Zucker), AMX-Spektrum der Vinylprotonen: 5.88 (d; J_{MX} = 18 Hz; H_M), 5.34 (d; J_{AX} = 10.5 Hz; H_A), 6.8 (dd; H_X), 7.15-7.9 (4d; 8H, Aromaten-H), 8.45 (s; H-C=N-).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ = 20.62, 20.79 (2q; 4C, $\underline{C}H_3$), 62.09 (t; C-6 am Zucker), 65.93 (d; C-4 am Zucker), 68.82 (d; C-3 am Zucker), 69.14, 69.33 (2d; 2C, C-2, C-5 am Zucker), 95.99 (d; C-1 am Zucker), 115.40 (t; -C=$\underline{C}H_2$), 117.07, 122.01, 126.38, 128.77 (8C, Aromaten-C), 135.49 (d; -$\underline{C}$H=CH_2), 136.08, 140.19, 146.93, 153.84 (4C, Aromaten-C), 158.64 (d; -$\underline{C}$=N-), 169.42-170.17 (4s; 4C, -$\underline{C}$(O)CH_3).

N-(5-Vinylsalicyliden)-p-aminophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-D-mannopyranosid 17

17 wurde aus 2 g (4.6 mmol) p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-tetraacetyl-α-D-mannosid 20 und 0.74 g (5.0 mmol) 5-Vinylsalicylaldehyd 22[42, 55] erhalten. Beim Einengen der ethanolischen Lösung fielen orangefarbene Kristalle aus.

Ausbeute 1.94 g (75%)

Schmp. 106-109°C

$[\alpha]_D^{20}$ = + 80.1 (c = 1 in Benzol)

$C_{29}H_{31}NO_{11}$ (569.6) Ber. C 61.16 H 5.49 N 2.46

Gef. C 60.94 H 5.42 N 2.21

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : δ = 2.0, 2.18 (2s; 12H, -$\underline{C}H_3$), 4.05-4.45 (m; 6H, H-2 bis H-6 am Zucker),

AMX-Spektrum der Vinylprotonen: 5.10 (d; J_{AX} = 10.5 Hz; H_A), 5.58 (d; J_{MX} = 18 Hz; H_M), 6.64 (dd; H_X), 6.8-7.5 (m; 7H, Aromaten-H), 8.57 (s; $\underline{H}$-C=N-).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ = 20.62, 20.79 (2q; 4C, -$\underline{C}H_3$), 62.06 (t; C-6 am Zucker), 65.86 (d; C-4 am Zucker), 68.77 (d; C-3 am Zucker), 69.24 (d; 2C, C-2, C-5 am Zucker), 95.90 (d; C-1 am Zucker), 111.70 (t; -C=$\underline{C}H_2$), 117.26, 118.76, 122.19, 128.82, 129.86, 130.42 (9C, Aromaten-C), 135.43 (d; -$\underline{C}$=CH_2), 143.21, 154.44, 160.62 (3C, Aromaten-C), 161.23 (d; -$\underline{C}$=N-), 169.40-170.14 (4s; 4C, -C(O)CH_3).

3.3 Darstellung der boronesterhaltigen Matrizenmonomere

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Veresterung von Mannosiden mit Tris-(p-vinylphenylboroxin) (PVB)

30 mmol des Mannosids und 20 mmol PVB wurden in 200 ml Benzol am Wasserabscheider erhitzt. Nach azeotroper Entfernung des bei der Reaktion entstehenden Wassers wurde das Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand in wasserfreiem Ether aufgenommen. Die Etherlösung wurde filtriert und anschließend soweit eingeengt, bis das Produkt auskristallisierte.

Phenyl-2, 3; 4, 6-bis-O-(p-vinylphenylboronyl)-α-D-mannopyranosid

Ansatz : 7.7 g (30 mmol) Phenyl-α-D-mannosid 2 + 7.8 g (20 mmol) PVB

Ausbeute : 11.9 g (83%) (Lit.[74] 86%)

Schmp. 138°C (Lit.[74] 139°C)

N-(4-Vinylbenzyliden)-p-aminophenyl-2, 3; 4, 6-bis-O-(p-vinylphenylboronyl)-α-D-mannopyranosid 13

Ansatz : 11.6 g (30 mmol) 26 + 7.8 g (20 mmol) PVB)

Ausbeute : 16.65 g (91%) gelbliche Plättchen

Schmp. 184°C

$[\alpha]_D^{25}$ = + 151.2 (c = 0.5 in DMSO)

$C_{37}H_{33}B_2NO_6$ (609.3) Ber. C 72.94 H 5.46 N 2.30

Gef. C 72.73 H 5.45 N 2.14

^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ = 3.7-4.2 (m; 6H, H-1 bis H-6 am Zucker), AMX-Spektrum der Vinylprotonen: 5.26 (dd; J_{AX} = 9.0 Hz; 3H, H_A), 5.77 (dd; J_{MX} = 18.0 Hz; 3H, H_M), 6.70 (dd; 3H, H_X), 5.84 (s; H-1 am Zucker), 6.8-8.0 (m; 16H, Aromaten-H), 8.42 (s; H-C=N-).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ = 62.51 (d; C-4 am Zucker), 63.67 (t; C-6 am Zucker), 75.56, 77.63, 77.92 (3d; 3C, C-2, C-3, C-5 am Zucker), 97.22 (d; C-1 am Zucker), 114.54, 115.29 (3t; 3C, -C=CH_2), 115.34, 116.96, 122.11, 125.25, 125.54, 126.36, 128.76, 134.35, 135.30, 136.01 (Aromaten-C), 135.50, 136.49, 136.73 (3d; 3C, -C=CH_2), 139.85, 140.14, 140.84, 146.71, 153.89 (Aromaten-C), 158.52 (d; -C=N-).

N-(5-Vinylsalicyliden)-p-aminophenyl-2, 3; 4, 6-bis-O-(p-vinylphenylboronyl)-α-D-mannopyranosid 14

Ansatz : 12.04 g (30 mmol) 27 + 7.8 g (20 mmol) PVB

Ausbeute : 16.88 g (90%) orangefarbene Kristalle

Schmp. 102-103°C

$[\alpha]_D^{25}$ = + 125.5 (c = 0.2 in $CHCl_3$)

$C_{37}H_{33}B_2NO_7$ (625.3) Ber. C 71.07 H 5.32 N 2.24

Gef. C 70.62 H 5.36 N 2.10

^{1}H-NMR (DMSO-d_6) : δ = 3.4-4.2 (m; 6H, H-1 bis H-6 am Zucker), 5.64 (s; H-1 am Zucker), AMX-Spektrum der Vinylprotonen: 5.30 (dd; J_{AX} = 10.5 Hz; 3H, H_A), 5.88 (dd; J_{MX} = 16.5 Hz; 3H, H_M), 6.75 (dd; 3H, H_X), 6.9-7.9 (m; 15H, Aromaten-H), 8.79 (s; H-C=N-).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$) : δ = 62.62 (d; C-4 am Zucker), 63.64 (t; C-6 am Zucker), 75.48, 77.57, 77.85 (3d; 3C, C-2, C-3, C-5 am Zucker), 97.16 (d; C-1 am Zucker), 111.72, 114.58, 115.33 (3t; 3C, -C=$\underline{C}H_2$), 116.95, 117.12, 117.27, 118.75, 122.28, 125.09, 125.28, 125.57, 128.80, 129.84, 130.37, 134.34, 135.17, 135.29 (Aromaten-C), 135.41, 135.50 (Aromaten-C, -$\underline{C}$=CH_2), 136.47, 136.71 (2d; 2C, -$\underline{C}$=CH_2), 139.88, 140.89, 142.93, 154.50, 160.61 (Aromaten-C), 161.06 (d; -$\underline{C}$=N-).

p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-bis-O-(p-vinylphenylboronyl)-α-D-mannopyranosid I[

Ansatz : 8.14 g (30 mmol) 7 + 7.8 g (20 mmol) PVB

Die Reaktion muß unter Ausschluß von Sauerstoff durchgeführt werden.

Ausbeute 13.50 g (91%) weiße Kristalle

Schmp. 196-198°C

$[\alpha]_D^{20}$= -43.4 (c = 1 in Benzol)

$C_{28}H_{26}B_2NO_6$ (494.2) Ber. C 68.06 H 5.30 N 2.83

Gef. C 67.74 H 5.50 N 2.86

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : δ = 3.3-4.3 (m; 8H, NH_2, H-2 bis H-6 am Zucker), 5.74 (s; H-1 am Zucker), AMX-Spektrum der Vinylprotonen: 5.25 (dd; J_{AX} = 9 Hz; 2H, H_A), 5.74 (dd; J_{MX} = 18 Hz; 2H, H_M), 6.58 dd; 2H, H_X), 6.5-7.9 (m; 12H, Aromaten-H).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$) : δ = 62.31 (d; C-4 am Zucker), 63.77 (t; C-6 am Zucker), 75.71, 77.72, 78.04 (3d; 3C, C-2, C-3, C-5 am Zucker), 98.04 (d; C-1 am Zucker), 114.52, 115.24 (2t; 2C, -C=$\underline{C}H_2$), 117.00, 125.27, 125.54, 134.33, 135.30 (Aromaten-C), 136.53, 136.76 (2d; 2C, -$\underline{C}$H=CH_2), 139.86, 140.82, 141.83, 148.33 (Aromaten-C).

4. Herstellung eines geschützten Aldehyds zur Fixierung auf Kieselgel

4.1 Versuche zur Einführung der Trimethoxysilylfunktion in 2-(4-Bromphenyl)-1, 3-dioxolan 30 bzw. 2-(4-Chlorphenyl)-1, 3-dioxolan

2-(4-Chlorphenyl)-1, 3-dioxolan wurde nach Umsetzung von p-Chlorbenzaldehyd mit Ethylenglycol am Wasserabscheider erhalten[110]. Zur Herstellung von 2-(4-Bromphenyl)-1, 3-dioxolan 30 wurde p-Bromtoluol mit CrO_3 zum p-Brombenzaldehyd 29 oxidiert und mit Ethylenglycol zum Dioxolan 30 umgesetzt[103].

Grignardreaktion

25 g (0.11 mol) 2-(4-Bromphenyl)-1, 3-dioxolan 30 wurden in 50 ml THF gelöst und zu 3.6 g (0.15 mol) Mg-Spänen in 50 ml THF getropft. Aus der Bromverbindung 30 konnte auf diese Weise das Grignardreagenz hergestellt werden.

2-(4-Chlorphenyl)-1, 3-dioxolan zeigte auch mit aktiviertem Magnesium keine Reaktion.

Das Grignardreagenz wurde, um Niederschlagsbildung weitgehend zu vermeiden, direkt nach der Herstellung vom überschüssigen Magnesium dekantiert und heiß zu einer gekühlten ($0^{\circ}C$) Lösung von 25 g (0.15 mol) $SiCl_4$ in 100 ml Ether getropft. Dabei bildete sich ein bräunlicher Niederschlag. Die Reaktionsmischung wurde in parallelen Versuchen zwischen 1 und 10 h zum Rückfluß erhitzt. Danach wurde abgekühlt, der Niederschlag abfiltriert und im Filtrat das Lösungsmittel und überschüssiges $SiCl_4$ abgezogen.

Zur Überführung der Trichlorsilylfunktion in die Trimethoxysilylgruppe wurde der Rückstand in Toluol wiederaufgenommen, mit 33.3 g (0.33 mol) Triethylamin versetzt und anschließend unter Kühlung mit 30 ml Methanol umgesetzt. Die ausgefallenen Salze wurden abfiltriert, die Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand im Vakuum fraktioniert. Die NMR-spektroskopische Untersuchung des Destillats zeigte, daß der Dioxolanring gespalten worden war. Das gewünschte Produkt war nur in sehr geringer Menge entstanden.

Bei analogen Umsetzungen mit Tetraethoxysilan anstelle des $SiCl_4$ wurden hauptsächlich die Ausgangsprodukte zurückerhalten.

Lithiierung

Zu einer Lösung von 37.2 g (0.16 mol) 2-(4-Bromphenyl)-1, 3-dioxolan in 200 ml Ether wurden bei -70°C 100 ml einer 1.7 molaren BuLi-Lösung zugetropft. Nach Ende der Zugabe wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur aufgewärmt und 2 h zum Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde die Lithiumverbindung zu 33.8 g (0.2 mol) $SiCl_4$ in Ether bei -30°C zugetropft. In einem Parallelversuch wurde die Lithiumverbindung ohne zwischenzeitliches Erhitzen zum $SiCl_4$ gegeben. Nach Ende der Zugabe wurde das Reaktionsgemisch 0-4 h zum Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde abgekühlt, das ausgefallene LiCl abfiltriert, der Ether abgezogen und, wie bei der Grignardverbindung beschrieben, die Umsetzung mit Methanol in Gegenwart von Triethylamin vorgenommen.

Es entstand ein komplexes Reaktionsgemisch, dessen NMR-spektroskopische Untersuchung wiederum auf eine Spaltung des Dioxolanringes schließen ließ. Mit Tetraethoxysilan fand auch hier fast keine Umsetzung statt.

4.2 Synthese von [4-(Dimethoxymethyl)-phenyl]-trimethoxysilan 37

(4-Methylphenyl)-trichlorsilan 35[107]

Das Grignardreagenz wurde aus 85.5 g (0.5 mol) p-Bromtoluol und 14 g (0.6 mol) Magnesium in 200 ml THF hergestellt. Die Grignardlösung wurde heiß in einen Tropftrichter gefüllt (beim Abkühlen bildet sich ein Niederschlag!) und zu einer Lösung von 115 g (0.7 mol) $SiCl_4$ in 100 ml wasserfreiem Ether getropft. Während des Zutropfens wurde die $SiCl_4$-Lösung mit Wasser gekühlt. Nach Beendigung der Zugabe wurde noch 5 h zum Rückfluß erhitzt, danach abgekühlt, die Mg-Salze abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt.

Das zurückbleibende Produkt wurde über eine 10 cm Vigreux-Kolonne im Vakuum fraktioniert.

Ausbeute	63.8 g (57%)	(Lit[107]	57%)
Sdp.	69°C/0.5 Torr	(Lit[107]	Sdp. 132 °C/17 Torr)

[4-(Dibrommethyl)-phenyl]-trichlorsilan 36

33.8 g (0.15 mol) (4-Methylphenyl)-trichlorsilan 35 wurden in 170 ml wasserfreiem CCl_4 gelöst und mit 53.4 g (0.3 mol) N-Bromsuccinimid und einer Spatelspitze AIBN versetzt. Die radikalische Reaktion wurde durch UV-Bestrahlung initiiert. Nach ca. 1 h war das gesamte N-Bromsuccinimid umgesetzt. Es wurde abgekühlt, das Succinimid abfiltriert und CCl_4 im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde zunächst über eine kurze Vigreux-Kolonne grob fraktioniert. Das Destillat enthielt neben dem gewünschten Produkt noch geringe Mengen Mono- und Tribromid. Durch nochmalige fraktionierte Destillation in einer Spaltrohrkolonne wurde das Produkt analysenrein erhalten.

Ausbeute 35.5 g (62%)

Sdp. 105-107°C/0.01 Torr

$C_7H_5Br_2Cl_3Si$ (383.4) Ber. C 21.93 H 1.32

Gef. C 21.82 H 1.27

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 6.64 (s; $\underline{C}HBr_2$), 7.70 (d; 2H, Aromaten-H), 7.86 (d; 2H, Aromaten-H).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ = 39.43 (d; -$\underline{C}HBr_2$), 126.37 (d; 2C, C-3, C-5), 133.04 (s; C-1), 133.42 (d; 2C, C-2, C-6), 145.67 (s; C-4).

[4-(Dimethoxymethyl)-phenyl]-trimethoxysilan 37

8.73 g (0.38 mol) Natrium wurden in 250 ml wasserfreiem Methanol gelöst. Diese Lösung wurde langsam zu 29 g (0.076 mol) [4-(Dibrommethyl)-phenyl]-trichlorsilan 36 in 50 ml wasserfreiem Benzol getropft. Es entstand sofort ein weißer Niederschlag von Siliciumsalzen. Die Reaktion verlief zu Beginn stark exotherm. Nach Beendigung der Zugabe (ca. 1 h) wurde das Reaktionsgemisch noch 10 h zum Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde im Eisbad abgekühlt und die Siliciumsalze abfiltriert. Beim Entfernen des Lösungsmittels fielen weitere Salze aus, sodaß erneut filtriert werden mußte. Das Produkt wurde im Vakuum fraktioniert. Die Ausbeuten variierten zwischen 30 und 50%.

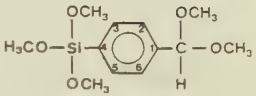
Sdp. 87°C/0.01 Torr

$C_{12}H_{20}SiO_5$ (272.4) Ber. C 52.92 H 7.40

Gef. C 52.88 H 7.53

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : δ = 3.32 (s; 6H, -C-($O\underline{C}H_3$)$_2$), 3.62 (s; 9H, -Si-($O\underline{C}H_3$)$_3$), 5.35 (s; $\underline{H}$-C-(OCH_3)$_2$), 7.43 (d; 2H, Aromaten-H), 7.62 (d; 2H, Aromaten-H).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$) : δ = 50.74 (q; 3C, -Si($\underline{C}H_3$)$_3$)$^+$,
52.76 (q; 2C, -CH-($\underline{C}H_3$)$_2$)$^+$, 102.87 (d; -$\underline{C}$H(OCH_3)$_2$),
126.20 (d; 2C, C-2, C-6), 129.65 (s; C-4),
134.58 (d; 2C, C-3, C-5), 140.39 (s; C-1).
Zuordnung der Aromatenprotonen nach Literatur[111].



$^+$ Zuordnung durch selektive Entkopplung.

5. Herstellung von Kieselgelpolymeren durch Copolymerisation von 6 mit 3, 13, 14 oder 15a und 15b

5.1 Vorbehandlung des Kieselgels und Modifizierung mit 5

Alle Kieselgele wurden vor der Modifizierung 4 h bei 100°C über P_2O_5 im Vakuum getrocknet. Der Wasserverlust des Kieselgels wurde gravimetrisch überprüft. Nach 4 h wurde übereinstimmend mit anderen Untersuchungen[45] kein weiterer Gewichtsverlust mehr beobachtet.

Das so vorbehandelte Kieselgel wurde unter Feuchtigkeitsausschluß mit 3-(Trimethoxysilyl)-propylmethacrylat 5 (8 µmol/m^2 Kieselgel) in CCl_4 (10 ml/g Kieselgel) umgesetzt. Es wurde 10 h zum Rückfluß erhitzt und zum Schluß das bei der Reaktion entstehende Methanol abdestilliert. Testversuche hatten gezeigt, daß 5 unter diesen Bedingungen stabil ist. Eine Polymerisation von 5 trat erst nach Zusatz von AIBN und gründlicher Entfernung des Sauerstoffs ein.

Nach beendeter Reaktion wurde das Kieselgel abfiltriert, 6 mal mit CH_2Cl_2 gewaschen und anschließend 4 h bei 40°C im Vakuum gehalten.

5.2 Verkappung der OH-Gruppen

Umsetzung mit Trimethylchlorsilan

Das mit 5 modifizierte und getrocknete Kieselgel wurde in wasserfreiem CCl_4 suspensiert (10 ml/g Kieselgel) und mit Trimethylchlorsilan (TMCS) (16 µmol/m^2 Kieselgel) 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Kieselgel abfiltriert, gründlich mit CH_2Cl_2 gewaschen und 4 h bei 40°C im Vakuum getrocknet.

	K 500 + 5	K 500 + 5 + TMCS
% C	3.968	1.910
% H	0.668	0.328

Umsetzung mit Trimethylchlorsilan und Pyridin

Diese Umsetzung wurde analog dem vorher beschriebenen Ansatz durchgeführt unter Zusatz von 16 µmol Pyridin/m^2 Kieselgel.

	K 500 + 5 + TMCS + Py
% C	2.772
% H	0.425

Umsetzung mit Hexamethyldisilazan (HMDS)

Die Reaktion wurde analog durchgeführt wie beim Trimethylchlorsilan beschrieben, unter Zusatz von 16 µmol HMDS/m^2 Kieselgel.

	K 1000 + 5	K 1000 + 5 + HMDS
% C	0.525	0.780
% H	0.133	0.156

5.3 Polymerisation

Nach dem im folgenden beschriebenen Verfahren wurden die in den Tabellen 3, 5 und 9 aufgeführten Kieselgelpolymere hergestellt.
Matrizenmonomer, Initiator und Comonomer (EGDMA bzw. MMA) wurden in einem 1:1-Gemisch aus wasserfreiem Benzol und Acetonitril gelöst (2.5 ml Lösungsmittelgemisch/g Kieselgel).

Diese Lösung wurde zusammen mit dem modifizierten Kieselgel in einen N_2-Kolben gefüllt und 15 min gerührt, um eine gleichmäßige Verteilung der Monomermischung auf dem Kieselgel zu erreichen. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum (5-10 Torr) weitgehend entfernt. Bei den mit a.) gekennzeichneten Kieselgelpolymeren wurde so lange Lösungsmittel abgezogen, bis die Kieselgele gerade pulverförmig waren und nicht mehr zusammenklumpten (Lösungsmittelgehalt ca. 0.3-0.4 g/g Kieselgel, durch Differenzwägung vor und nach dem Abziehen des Lösungsmittels zu bestimmen). Die nach Verfahren b.) hergestellten Kieselgelpolymere wurden feucht polymerisiert (Lösungsmittelgehalt ca. 0.8-1.2 g/g Kieselgel). Vor der Polymerisation wurde die jeweilige Monomermischung in flüssiger Luft abgekühlt und der Kolben zur Entfernung des Sauerstoffs 3 mal evakuiert und mit Stickstoff belüftet. Zum Schluß wurde leicht evakuiert, der Kolben gut verschlossen und der Ansatz 3 d bei 70°C im Trockenschrank polymerisiert.

5.4 Abspaltung und Äquilibrierung der Kieselgelpolymere

5.4.1 Kieselgelpolymere mit $\underline{\underline{3}}$ als Matrizenmonomer

Nach der Polymerisation wurden alle Kieselgele mit Acetonitril und Benzol gewaschen. Im Filtrat wurde polarimetrisch der Anteil an nicht-einpolymerisiertem Monomer $\underline{\underline{3}}$ bestimmt. Dieser lag in den meisten Fällen unter 5%.

Zur Abspaltung der Matrize diente eine Lösung aus Methanol/Wasser 60:40. Die Kieselgelpolymere wurden in 100-150 ml dieser Abspaltlösung suspendiert, 2 h bei Raumtemperatur gerührt und abfiltriert.

Es mußte ca. 4 mal neue Abspaltlösung zugesetzt werden, bis im Filtrat nur noch vernachlässigbar kleine Mengen (ca. 2 mg) der Matrize nachweisbar waren. Ein kontinuierliches Abspaltverfahren, wie es bei den bisher untersuchten Polymeren meist angewendet wurde[31], war hier schwierig, da die ungesichteten Kieselgele (besonders K 500 und K 1000) so viel Feinanteile enthielten, daß die Fritten sehr schnell verstopften. Nach beendeter Abspaltung wurden die Kieselgele gründlich mit Acetonitril gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Zur Äquilibrierung wurden jeweils 60% der Menge an abgespaltener Matrize als Racemat zugesetzt. Das Racemat wurde zunächst in Methanol gelöst (10 ml Methanol/25 mg Racemat), im Polarimeter kontrolliert und anschließend einer Suspension des zu äquilibrierenden Kieselgels in Acetonitril (Acetonitril/Methanol-Verhältnis 4:1) zugesetzt. Die Dauer der Äquilibrierung betrug jeweils 24 h. Parallel zu jeder Äquilibrierung wurde ein Blindversuch durchgeführt, in dem ein anderer Teil des Kieselgels ohne Racematzusatz in Methanol/Acetonitril gerührt wurde.Nach Beendigung der Äquilibrierung wurden Probe und Blindprobe abfiltriert und mit wasserfreiem Acetonitril (2.5 ml/g Kieselgel) nachgewaschen. Die Filtrate wurden zur Trockene eingeengt und in 5 ml Methanol wieder aufgelöst. Von diesen Lösungen wurden die Drehwerte bei 546 und 436 nm bestimmt. Daraus kann der Überschuß des L-Antipoden im Filtrat (LÜ) ermittelt werden. Ebenso groß muß der Überschuß des D-Antipoden am Kieselgelpolymer sein. Die Gesamtmenge an D- und L-Phenylmannosid im Filtrat (mF) wurde UV-spektroskopisch bei 255 nm gemessen. Die Äquilibrierungsbedingungen sowie die erhaltenen Werte sind in Tab. 13 aufgeführt.

Tab. 13 : Äquilibrierung der Kieselgelpolymere mit 2 Haftgruppen

Kieselgelpolymer	Einwaage (g)	Äquilibrierungslösung (ml)		Racemat (mg)	mF (mg)	LÜ (mg)	α
		CH_3OH	CH_3CN				
K 60 A	1.48	13.6	54.4	34.0	15.7	0.9	1.24
K 60 B	3.68	12.0	48.0	30.0	8.2	2.8	2.64
K 100 A	1.13	12.0	48.0	30.0	14.4	-	1.00
K 100 B	1.69	12.0	48.0	30.0	14.5	-	1.00
K 100 C	1.38	8.9	35.6	22.2	10.8	0.8	1.34
K 100 D	8.51	12.1	48.4	30.2	20.7	2.1	1.92
K 500 A	3.11	12.5	50.0	31.2	12.9	-	1.00
K 500 B	2.66	5.4	21.6	13.5	8.1	-	1.00
K 500 C	1.26	12.0	48.0	30.0	12.2	1.4	1.47
K 500 D	4.11	12.8	51.2	32.0	13.8	4.7	3.45
K 500 E	6.04	11.0	44.0	27.5	11.8	2.6	2.18
K 500 F	3.33	16.0	64.0	40.0	17.6	4.7	2.65
K 500 G	8.19	12.7	50.8	31.8	23.8	1.9	1.90
K 500 H	7.98	12.8	51.2	32.0	27.7	1.6	2.45
K 1000 A	3.60	10.8	43.2	27.0	7.9	3.2	3.31
K 1000 B	5.73	10.8	43.2	27.0	18.1	2.2	2.12
KM 500 A	3.30	10.8	43.2	27.0	14.7	-	1.00
KM 500 B	1.90	10.2	40.8	25.6	13.5	-	1.00
KME 500	3.85	13.8	55.2	34.5	19.0	2.0	1.60

5.4.2 Kieselgelpolymere mit 13, 14 oder 15 als Matrizenmonomer

Die Untersuchungen wurden mit Ausnahme der im folgenden genannten Abweichungen wie unter IV.5.4.1 beschrieben durchgeführt.

Als Abspaltlösung wurde CH_3CN/0.1 n HCl (10:1) verwendet. Die Abspaltung erfolgte wesentlich langsamer als bei Kieselgelpolymeren mit 3 als Matrizenmonomer. Aufgrund der Sauerstoff- und Lichtempfindlichkeit der Matrize p-Aminophenylmannosid 7 wurden Abspaltung und Äquilibrierung unter N_2 durchgeführt. Die Äquilibrierungslösung wurde zusätzlich gegen Licht geschützt. Die Dauer der Äquilibrierung betrug 3 d.

Die Äquilibrierungsbedingungen wurden zunächst am monomeren System untersucht.

Die Gleichgewichtslage bei der Schiffbasenbildung und -hydrolyse in Abhängigkeit von Säure- und Wassergehalt der Lösung wurde im Rahmen der Untersuchungen von Polymeren mit 1 Haftgruppe getestet (Kap. IV.8.2.).

Zur Bestimmung der Gleichgewichtslage bei der Boronesterbildung und -hydrolyse wurde das System

Phenylboronsäure + 1, 2-Propandiol $\rightleftharpoons$ Phenylboronsäureester + H_2O

in verschiedenen Äquilibrierungslösungen polarimetrisch untersucht. Für die in Tab. 11 genannten Äquilibrierungsbedingungen wurden folgende Werte gefunden:

Phenylboronsäurepropandiolester (0.322 g)

in 50 ml CH_3CN	in 50 ml CH_3CN + 1 ml H_2O + 0.25 ml CF_3COOH	in 50 ml CH_3CN + 1 ml H_2O + 0.5 ml CF_3COOH
α_{546}^{20} = + 0.153	α_{546}^{20} = + 0.109	α_{546}^{20} = + 0.110
α_{436}^{20} = + 0.272	α_{436}^{20} = + 0.194	α_{436}^{20} = + 0.197

Die gleichen Werte wurden (10 min nach Zusammengeben der Komponenten) ausgehend von äquimolaren Mengen Phenylboronsäure (0.170 g) und 1, 2-Propandiol (0.152 g) erhalten. 1, 2-Propandiol allein (0.152 g in 50 ml CH_3CN) zeigte folgende optische Drehung:

α_{546}^{20} = + 0.062

α_{436}^{20} = + 0.100

Parallel zu jeder Äquilibrierung wurde wiederum eine Blindprobe durchgeführt. Die Blindproben zeigten, daß bei schiffbasenhaltigen Polymeren unter sauren Äquilibrierungsbedingungen noch Matrize nachgespalten wird. Die Werte der Probe wurden deshalb um die der Blindprobe korrigiert.

Auch bei weitgehender Ausschaltung von Licht und Sauerstoff während der Äquilibrierungen wurden nach dem Abfiltrieren des Kieselgelpolymers rötlich gefärbte Lösungen erhalten. Die Drehwerte mußten deshalb, um eine ausreichende Durchlässigkeit im Polarimeter zu erhalten, in größerer Verdünnung gemessen werden als bei den in Kap. IV.5.4.1 beschriebenen boronsäurehaltigen Kieselgelpolymeren. Die UV-spektroskopische Bestimmung der Gesamtmenge an D- und L-Aminophenylmannosid im Filtrat erfolgte bei 305 nm. Die Werte sind in Tab. 14 aufgeführt.

Tab. 14 : Äquilibrierung (Kieselgelpolymere mit 3 Haftgruppen)

Kieselgelpolymer	Einwaage (g)	Äquilibrierungslösung (ml)	Racemat	Racematmenge (mg)	mF (mg)	LÜ (mg)	α
K II 500 A	5.1	48 CH_3CN 12 CH_3OH 2.4 HCl (0.1n)	APM	30.0	6.0	1.8	2.16
K II 500 B	9.0	40.6 CH_3CN 10.2 CH_3OH	APM	25.4	1.3	0.6	2.85
	9.0	37.8 CH_3CN 9.4 CH_3OH	PM	23.6	12.7	0.9	1.36
	10.3	58.2 CH_3CN 1.2 H_2O 0.29 CF_3COOH	APM	29.1	15.6	1.0	1.34
	10.3	51.6 CH_3CN 1.0 H_2O 0.26 CF_3COOH	PM	25.8	14.1	0.9	1.33
K II 500 C	7.8	45.4 CH_3CN 11.4 CH_3OH	APM	28.4	1.2	0.6	3.14
	7.8	42.2 CH_3CN	PM	26.4	6.5	1.7	2.03
	6.8	49.4 CH_3CN 1.0 H_2O 0.5 CF_3COOH	APM	24.7	7.8	1.8	1.96
	6.8	46.0 CH_3CN 0.9 H_2O 0.5 CF_3COOH	PM	23.0	8.1	1.4	1.68

Fortsetzung Tab. 14

Kieselgelpolymer	Einwaage (g)	Äquilibrierungslösung (ml)	Racemat	Rematmenge (mg)	mF (mg)	LÜ (mg)	α
K I 500	10.4	69.4 CH_3CN 1.4 H_2O 0.3 CF_3COOH	APM	34.7	18.6	0.4	1.09
	10.4	65.6 CH_3CN 1.3 H_2O 0.3 CF_3COOH	PM	32.8	19.3	0.4	1.10
K III 500	9.2	45.4 CH_3CN 11.4 CH_3OH	APM	28.4	5.7	2.2	2.71
	9.2	42.2 CH_3CN 10.6 CH_3OH	PM	26.4	15.3	2.6	2.27

APM : p-Aminophenylmannosid

PM : Phenylmannosid

6. Hochdruckflüssigchromatographische Untersuchungen

Die für die Hochdruckflüssigchromatographie eingesetzten Kieselgele wurden vor der Modifizierung windgesichtet. Bei der Windsichtung wurden maximal 200 g Kieselgel pro Durchgang eingesetzt. Bei Drehzahlen von 8000-10000 U/min wurden Teilchengrößen zwischen 11 und 20 µm erhalten. Die Partikelgröße wurde im Mikroskop kontrolliert. Mehr als 80% der Teilchen lagen in der richtigen Fraktion vor.

Nach der Windsichtung wurden die Kieselgele, wie in Kap. IV.5.1.-5.3. beschrieben, getrocknet, modifiziert und polymerisiert. Im Anschluß daran wurden die Kieselgelpolymere in einem Methanol/Wasser-Gemisch (10:1) suspendiert, um zusammenklebende Partikel und Feinanteile durch Sedimentation zu entfernen.

Die Säulen (Metall, 250 x 4 mm) wurden in Suspension (Methanol/Dioxan 3:1) gefüllt mit Hilfe eines Säulenpackers, dessen Volumen das fünffache des Säulenvolumens betrug. Zur Säulenfüllung wurde ein Druck von 350-400 at angelegt.

Die Hochdruckflüssigchromatographie-Apparatur bestand aus folgenden Bauteilen:

Injektor : Rheodyne variable volume sample injector

Pumpe : Gilson Modell 302, mit microflow-accessoir für niedrige Durchflußgeschwindigkeiten

Detektor : Spectra Physics 8200 (UV-Detektor), 254 nm Festwellenlänge

Es wurde bei Raumtemperatur gearbeitet. Die Durchflußgeschwindigkeit wurde von 0.01 bis 1 ml/min variiert.

7. Kieselgelpolymere mit direkt gebundenem Matrizenmonomer

7.1 Fixierung von 5 und 37 auf Kieselgel

8.8 g getrocknetes Kieselgel 500 wurden unter Stickstoff in 88 ml wasserfreiem CCl_4 suspendiert und mit 0.338 g (1.2 mmol) [4-(Dimethoxymethyl)-phenyl]-trimethoxysilan 37 und 0.354 g (1.2 mmol) 3-(Trimethoxysilyl)-propylmethacrylat 5 versetzt.
Das Reaktionsgemisch wurde 10 h zum Rückfluß erhitzt und das entstandene Methanol anschließend abdestilliert. Das Kieselgel wurde abfiltriert, gründlich mit CH_2Cl_2 gewaschen und bei 40°C im Vakuum 4 h getrocknet.

7.2. Freisetzung des Aldehyds

Nach einer Vorschrift von f. Huet et al.[112] zur Hydrolyse von Acetalen wurden 8 g des modifizierten Kieselgels 500 unter N_2 in CH_2Cl_2 suspendiert und mit 0.8 ml H_2O versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, abfiltriert und mit CH_2Cl_2 und Benzol nachgewaschen. Die C-H-Analyse dieses Kieselgels ergab die folgenden Werte:

% C	0.983
% H	0.201

Daraus folgt nach Formel (6) eine Belegung von 0.6 µmol Aldehyd/m^2 Kieselgel.

7.3 Umsetzung des aldehydgruppenhaltigen Kieselgels mit p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6-bis-O-(p-vinylphenylboronyl)-α-D-mannosid 15a

0.342 g (6.9 mmol) 15a wurden in 40 ml Benzol gelöst und der Drehwert dieser Lösung bestimmt. Anschließend wurden 7.64 g des aldehydgruppenhaltigen Kieselgels zugesetzt. Die Mischung wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Kieselgel abfiltriert und mit Benzol und Acetonitril gewaschen. Die gesammelten Filtrate wurden zur Trockene eingeengt und in 40 ml Benzol wieder aufgelöst.

Drehwerte der Benzollösung vor der Kieselgelzugabe	Drehwerte der Benzollösung nach der Umsetzung mit Kieselgel
$\alpha \, {}^{20}_{578} = -0.408$	$\alpha \, {}^{20}_{579} = -0.217$
$\alpha \, {}^{20}_{546} = -0.486$	$\alpha \, {}^{20}_{546} = -0.259$
$\alpha \, {}^{20}_{436} = -1.116$	$\alpha \, {}^{20}_{436} = -0.601$

Aus der Differenz ergibt sich, daß 0.160 g 15a an Kieselgel gebunden wurden (K III 500 B). Ebenso wurden auch die Kieselgele K III 500 D und K III 500 E modifiziert.

7.4 Polymerisation und Polymeruntersuchungen

Die Kieselgele wurden, wie in Kap. IV.5.3 beschrieben, unter Zusatz von EGDMA, AIBN und geringen Mengen Inertlösungsmittel polymerisiert. Abspaltung und Äquilibrierungen erfolgten wie bei den übrigen Kieselgelpolymeren mit 3 Haftgruppen. Die Ergebnisse der Äquilibrierungen sind in Tabelle 15 aufgeführt.

Tab. 15 : Äquilibrierung der Kieselgelpolymere mit direkt gebundenem Monomer

Kieselgelpolymer	Einwaage (g)	Äquilibrierungslösung (ml)	Racematmenge (mg)	mF (mg)	LÜ (mg)	α
K III 500 B	4.9	32.0 CH_3CN 8.0 CH_3OH	20.0	2.0	0.5	1.31
K III 500 D	6.7	40.6 CH_3CN 8.1 CH_3OH	25.4	3.4	0.5	1.41
K II 500 E	2.7	40.0 CH_3CN 10.0 CH_3OH	25.0	2.5	-	1.00

8. Polymere mit der Aldehydfunktion als einziger Haftgruppe

8.1 Polymerisationsverfahren

Matrizenmonomer (16 oder 17), AIBN und EGDMA wurden in dem Inertlösungsmittelgemisch Benzol/Acetonitril 1:1 gelöst. Die Polymerisationsansätze wurden in dickwandige Glasampullen gefüllt, in flüssiger Luft abgekühlt, evakuiert, aufgetaut und mit N_2 belüftet. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt, um den Sauerstoff aus der Lösung zu entfernen. Danach wurden die Ampullen erneut abgekühlt und unter leichtem Vakuum mit Hilfe eines Erdgas/O_2-Gebläsebrenners zugeschmolzen. Die Polymerisationsdauer betrug 3 Tage bei einer Temperatur von 70°C.
Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Ampullen geöffnet und die entstandenen gelbgefärbten undurchsichtigen Polymerblöcke grob zerkleinert. Mit Hilfe einer Schlagwerksmühle (Janke und Kunkel, Ika-Werk, Typ A 10) wurden die Polymere fein gemahlen. Das entstandene Polymermehl wurde auf einem Prüfsiebsatz (nach DIN 4188, Fa. Siebtechnik) mit einer Siebmaschine (Fa. Retsch, Typ RV) fraktioniert. Für alle weiteren Untersuchungen wurden die Siebfraktionen 32-125 µm verwendet.

8.2 Polymeruntersuchungen

Die gesiebten Polymere wurden mit wasserfreiem Benzol und Acetonitril gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden eingeengt und in Methanol wieder aufgelöst. Drehwertmessungen ergaben, daß ca. 30% der Matrizenmonomeren nicht einpolymerisiert wurden.
Die Abspaltung und Äquilibrierung der Polymere erfolgte wie in Kap. IV.5.4.2 für schiffbasenhaltige Kieselgelpolymere beschrieben.

Für die Wahl geeigneter Äquilibrierungsbedingungen wurde die Bildung und Hydrolyse der Schiff'schen Basen 16 und 17 zunächst im monomeren System NMR-spektroskopisch untersucht. Dazu wurden einmal je 0.08 g der Schiff'schen Basen in 500 µl CD_3CN gelöst und mit verschiedenen Mengen Methansulfonsäure versetzt. Zum anderen wurden äquimolare Mengen von p-Aminophenyl-2, 3; 4, 6- tetraacetyl-α-D-mannosid und 5-Vinylsalicylaldehyd bzw. p-Vinylbenzaldehyd unter den gleichen Bedingungen untersucht. Es zeigte sich, daß bei Zusatz von 6-8 µl Methansulfonsäure die Schiffbasenbildung zwar reversibel ist, jedoch ergaben dünnschichtchromatographische Versuche (Kieselgelplatten, Laufmittel: $CHCl_3$/Aceton 98:2 bzw. $CHCl_3$/Methanol 5:1), daß die Glycosidbindung unter diesen Bedingungen teilweise gespalten wird. Spätestens nach 1 Tag war freies p-Nitrophenol nachweisbar.

Daraufhin wurde die Hydrolyse der Schiff'schen Basen 16 und 17 in Gegenwart von Trifluoressigsäure im NMR untersucht.

Je 0.08 g der Schiff'schen Basen wurden in 500 µl CD_3CN gelöst und mit 10 µl D_2O sowie 2.5 bzw. 5.0 µl CF_3COOD versetzt. Die Integration der Aldehyd- und Schiffbasensignale ergab ein Verhältnis Aldehyd/Schiff'sche Base von ca. 1:1 (2.5 µl CF_3COOD) bzw. 1.5:1 (5 µl CF_3COOD). Unter diesen Bedingungen trat auch nach 3 Tagen noch keine Spaltung der Glycosidbindung auf.

9. Bestimmung der inneren Oberfläche von Kieselgelen und Polymeren

Zur Bestimmung der Oberfläche wurde das Kieselgel bzw. Polymer im Vakuum getrocknet und anschließend 4 h bei 50°C im Stickstoffstrom gespült, um adsorbierte Fremdstoffe zu entfernen. Die Messung der inneren Oberfläche erfolgte nach der BET-Methode im Areameter. Ausgewertet wurde nach dem "Einpunkt-Differenzverfahren" (DIN 66132)[78].

Literaturverzeichnis

1.) P. Cuatrecasas, M. Wilchek and C. B. Anfinsen
Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 61, 636 (1968)

2.) B. Limbach
Merck Kontakte 2, 32 (1984)

3.) R. Axen, H. Drevin and J. Carlsson
Acta Chem. Scand. B29, 471 (1975)

4.) A. A. Korte, T. Y. Lin
Biochemistry 12, 320 (1973)

5.) A. Bergold and W. H. Scouten
Chem. Anal. 66, 149 (1983)

6.) M. Glad, S. Ohlson, L. Hansson, M.-O. Mansson and K. Mosbach
J. Chromatogr. 200, 254 (1980)

7.) E. Seymour and J. M. M. Frechet
Tetrahedr. Lett. 1149 (1976)

8.) T. F. McCutchan, P. T. Grieham and D. Söll
Nucl. Acid Res. 2, 853 (1975)

9.) R. R. Maestas, J. R. Prieto, G. D. Kuehn and J. H. Hageman
J. Chromatogr. 189, 225 (1980)

10.) A. M. Yurkevich, J. J. Kolodkina, E. A. Ivanova and E. J. Pichuzhkina
Carbohydr. Res. 43, 215 (1975)

11.) K. Krohn, K. Eberlein and G. Gercken
J. Chromatogr. 153, 550 (1978)

12.) C. A. Elliger, B. G. Chan and W. C. Stanley
J. Chromatogr. 104, 57 (1975)

13.) a. H. Guilford
Chem. Soc. Rev. 2, 249 (1973)

b. W. H. Scouten
Affinity Chromatography, Wiley Interscience, New York 1981

c. J. Turkova
Affinity Chromatography, Elsevier, Amsterdam 1978

d. C. R. Lowe and P. D. G. Dean
Affinity Chromatography, Wiley Interscience, London 1974

14.) A. L. Van Wezel and P. Van der Marel
in T. C. J. Gribnau, J. Visser and R. J. F. Nivard (Eds)
Anal. Chem. Symp. Ser. 9, 283, Elsevier, Amsterdam 1982

15.) M. Rubinstein, Y. Schechter and A. Patchornik
Biochem. Biophys. Res. Commun. 70, 1257 (1976)

16.) R. Eketorp
in T. C. J. Gribnau, J. Visser and R. J. F. Nivard (Eds)
Anal. Chem. Symp. Ser. 9, 263, Elsevier, Amsterdam 1982

17.) T. M. S. Chang
Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs, 26, 546 (1980)

18.) Per-Olof Larsson, M. Glad, L. Hansson, M.-O. Mansson, St. Ohlson and K. Mosbach
Adv. Chromatogr. 21, 4 (1983)

19.) L. Hansson, M. Glad and Ch. Hansson
J. Chromatogr. 265, 37 (1983)

20.) E. Hagemeier, K.-S. Boos, E. Schlimme, K. Lechtenbörger and A. Kettrup
J. Chromatogr. 68, 291 (1983)

21.) a. F. H. Dickey
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 35, 227 (1949)
b. F. H. Dickey
J. Phys. Chem. 59, 695 (1955)

22.) H. Bartels and B. Prijs
Adv. Chromatogr. 11, 115 (1974)

23.) G. Wulff und A. Sarhan
Angew. Chem. 84, 364 (1972)

24.) K. Häupke und H. Hoffmann
Z. Chem. 8, 463 (1968)

25.) J. R. Millar, D. G. Smith and T. R. E. Kressman
J. Chem. Soc. 304 (1965)

26.) H. Nishide, J. Deguchi and E. Tsuchida
J. Polym. Sci.-Polym. Chem. Ed. 15, 3023 (1977)

27.) S. N. Gupta and D. C. Neckers
J. Polym. Sci.-Polym. Chem. Ed. 20, 1609 (1982)

28.) a. K. Mosbach
Makromol. Chem. 182, 687 (1981)
b. O. Norrlöw, M. Glad, K. Mosbach
J. Chromatogr. 299, 29 (1984)

29.) A. A. Efendiev and V. A. Kabanov
Pure and Appl. Chem. 54, 2077 (1982)

30.) K. J. Shea, E. A. Thompson, S. D. Pandey and Ph. S. Beauchamp
J. Am. Chem. Soc. 102, 3149 (1980)

31.) G. Wulff, W. Vesper, R. Grobe-Einsler and A. Sarhan
Makromol. Chem. 178, 2799 (1977)

32.) G. Wulff und E. Lohmar
Isr. J. Chem. 18, 279 (1979)

33.) G. Wulff and W. Vesper
J. Chromatogr. 167, 171 (1978)
W. Vesper, Dissertation, Bonn 1977

34.) G. Wulff and J. Gimpel
Makromol. Chem. 183, 2469 (1982)

35.) G. Wulff, R. Grobe-Einsler, W. Vesper and A. Sarhan
Makromol. Chem. 178, 2817 (1977)

36.) G. Wulff, W. Dederichs, R. Grotstollen and C. Jupe
in T. C. J. Gribnau, J. Visser and R. J. F. Nivard (Eds)
"Affinity Chromatography and Related Techniques", Elsevier,
Amsterdam 1982, p. 207

37.) G. Wulff
Pure and Appl. Chem 54, 2093 (1982)

38.) R. Grotstollen
Dissertation, Düsseldorf 1981

39.) G. Wulff, R. Kemmerer, J. Vietmeier and H. G. Poll
Nouv. J. Chim. 6, 681 (1982)

40.) D. Oberkobusch
Diplomarbeit, Düsseldorf 1981

41.) W. Dederichs

Dissertation, Düsseldorf 1983

42.) A. Akelah

Dissertation, Bonn 1978

G. Wulff and A. Akelah

Makromol. Chem. 179, 2647 (1979)

43.) W. Best

Dissertation, Bonn 1977

44.) G. Wolf

Diplomarbeit, Düsseldorf 1981

45.) B. Heide

Diplomarbeit, Düsseldorf 1982

46.) G. Helfmeier

Diplomarbeit, Düsseldorf 1981

47.) G. Wulff, A. Sarhan and K. Zabrocki

Tetrahedron Lett. 4329 (1973)

48.) G. Blaschke

Angew. Chem. 92, 4 (1980)

49.) K. R. Lindner und A. Mannschreck

J. Chromatogr. 193, 308 (1980)

50.) Y. Okamoto, E. Yashima, K. Hatada, K. Mislow

J. Org. Chem. 49, 557 (1984)

51.) a. V. A. Davankov

Pure and Appl. Chem. 54, 2159 (1982)

b. V. A. Davankov, A. A. Kurganov and A. S. Bochkov

Adv. Chromatogr. 22, 71 (1983)

52.) L. Sousa, D. G. Sogah, D. Hoffmann und D. Cram
J. Am. Chem. Soc. 100, 4596 (1978)

53.) C. H. Lochmüller, R. W. Souter
J. Chromatogr. 113, 283 (1975)

54.) V. Schurig
Angew. Chem. 96, 733 (1984)

55.) J. Vietmeier
Dissertation 1984

56.) M. L. Bender and M. Komiyama
"Cyclodextrin Chemistry", Springer Verlag, New York 1977

57.) J. Tabushi
Acc. Chem. Res. 15, 66 (1982)

58.) J. M. Lehn
Acc. Chem. Res. 11, 49 (1978)

59.) J. F. Stoddart
Chem. Soc. Rev. 8, 85 (1979)

60.) D. J. Cram and H. E. Katz
J. Am. Chem. Soc. 105, 135 (1983)

61.) R. M. Kellog
in "Topics in Current Chemistry", 101, 111 (1982)
Springer Verlag New York

62.) T. Kunitake
Adv. Phys. Org. Chem. 17, 435 (1980)

63.) R. S. Johnson, J. A. Walder and I. M. Kurtz
J. Am. Chem. Soc. 100, 5159 (1978)

64.) Th. Burgemeister, R. Grobe-Einsler, R. Grotstollen, A. Mannschreck und G. Wulff
Chem. Ber. 114, 3403 (1981)

65.) K. M. Dooley, J. A. Williams, B. C. Gates and R. L. Albright
J. Catal. 74, 361 (1982)

66.) F. Helfferich
J. Am. Chem. Soc. 76, 5567 (1954)

67.) R. W. Fulman
J. Org. Chem. 27, 4115 (1962)

68.) G. Poll
Diplomarbeit, Düsseldorf 1982

69.) E. D. Plueddemann
"Silane Coupling Agents", Plenum Press, New York 1982

70.) A. Munir and E. J. Goethals
Makromol. Chem. Rapid Commun. 2, 693 (1981)

71.) S. S. Ivanchev and A. V. Dmitrenko
Russ. Chem. Rev. 51, 670 (1982)

72.) J. Conchie, G. A. Levvy
Methods in Carbohydr. Chem. 2, 345 (1963)

73.) B. Helferich, S. Winkler
Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 66, 1556 (1933)

74.) J. Vietmeier
Diplomarbeit, Düsseldorf 1981

75.) R. Grobe-Einsler
Dissertation, Bonn 1977

76.) J. Sowden and H. Fischer
J. Am. Chem. Soc. 69, 1963 (1947)

77.) W. J. Dale and J. E. Rush
J. Org. Chem. 27, 2598 (1962)

78.) R. Haul und G. Dümbgen
Chem.-Ing.-Tech. 35, 586 (1963)

79.) K. K. Unger
"Porous Silica", Elsevier, Amsterdam 1979

80.) J. M. Bather and R. A. C. Gray
F. Chromatogr. 122, 159 (1976)

81.) V. Rehak and E. Smolková
Chromatographia 9, 219 (1976)

82.) K. Unger und E. Gallei
Kolloid-Z. und Z. Polymere 237, 358 (1970)

83.) M. B. Evans, A. D. Dale and C. J. Little
Chromatographia 13, 5 (1980)

84.) R. E. Majors and M. J. Hopper
J. Chromatogr. Sci. 12, 767 (1974)

85.) J. J. Kirkland
J. Chromatogr. Sci. 9, 206 (1971)

86.) J. H. Knox and G. Vasvari
J. Chromatogr. 83, 181 (1973)

87.) Th. G. Waddell, D. E. Leyden and M. T. De Bello
J. Am. Chem. Soc. 103, 5303 (1981)

88.) G. E. Berendsen and L. de Galan
J. Liquid Chromatogr. 1, 561 (1978)

89.) H. Hemetsberger, M. Kellermann and E. Ricken
Chromatographia 10, 726 (1977)

90.) K. K. Unger, N. Becker and P. Roumeliotis
J. Chromatogr. 125, 115 (1976)

91.) J. L. M. van de Venne, J. P. M. Rindt, G. J. M. M. Coenen and C. A. M. G. Cramers
Chromatographia 13, 11 (1980)

92.) K. E. Bij, C. Horváth, W. R. Melander and A. Nahum
J. Chromatogr. 203, 65 (1981)

93.) J. H. Knox and A. Pryde
J. Chromatogr. 112, 171 (1975)

94.) W. Dederichs
Veröffentlichung in Vorbereitung

95.) O. Westphal und H. Freier
Chem. Ber. 89, 582 (1956)

96.) J. J. Charette and E. de Hoffmann
J. Org. Chem. 44, 2256 (1973)

97.) J. Hoffmann and V. Sterba
Coll. Czech. Chem. Commun. 38, 3146 (1973)

98.) Houben-Weyl "Methoden der Organischen Chemie" Bd. VII/1
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1954

99.) G. Helfmeier
Unveröffentlichte Arbeiten

100.) H.-G. Poll
Unveröffentlichte Arbeiten

101.) Houben-Weyl "Methoden der Organischen Chemie" Bd. 13/5
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1980

102.) S. V. Lieberman and R. Connor
in "Organic Synthesis", Coll. Vol. II, 441 (1955)

103.) J. A. Landgrebe and R. H. Rynbrandt
J. Org. Chem. 31, 2585 (1966)

104.) J. F. W. McOmie
"Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press,
London and New York 1973

105.) Th. W. Greene
"Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley Interscience,
New York 1981

106.) W. Noll
"Chemie und Technologie der Silicone", Verlag Chemie, Weinheim 1968

107.) Vo-Kim-Yen, Z. Papousková, J. Schrame and V. Chvalovský
Collect. Chem. Commun. 38, 3167 (1973)

108.) E. Breitmeier, W. Voelter, G. Jung und C. Tänzer
Chem. Ber. 104, 1147 (1971)

109.) A. S. Perlin, B. Casu and H. J. Koch
Canad. J. Chem. 48, 2596 (1970)

110.) A. Rieche, E. Schmitz und E. Beyer
Chem. Ber. 91, 1935 (1958)

111.) R. K. Harris, J. Jones and Soon Ng
J. Magn. Res. 30, 521 (1978)

112.) F. Huet, A. Lechevalier, M. Pellet and J. M. Conia
Synthesis 63 (1978)

Herrn Dr. M. Minarik danke ich für die Betreuung der hochdruckflüssigchromatographischen Versuche sowie für viele wertvolle Hinweise und Diskussionen.

FOTODRUCK J. MAINZ GmbH
Neupforte 13, Nähe Markt, D-5100 Aachen
Telefon: (0241) 27305 und (0241) 38606